

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS, ENZIMÁTICAS E ANATÔMICAS  
AO MITIGAR O ESTRESSE HÍDRICO COM USO DE *Chlorella* sp. EM MUDAS  
*Cedrela fissilis* Vell.**

**Renan Marré Biazatti**

**Dourados- Mato Grosso do Sul  
2025**

**RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS, ENZIMÁTICAS E ANATÔMICAS  
AO MITIGAR O ESTRESSE HÍDRICO COM USO DE *Chlorella* sp. EM MUDAS  
*Cedrela fissilis* Vell.**

**Renan Marré Biazatti**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dra. Silvia Correa Santos**

**Tese apresentada à Universidade Federal da  
Grande Dourados, como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em Agronomia -  
Produção Vegetal, para obtenção do título de  
Doutor em Agronomia.**

**Dourados- Mato Grosso do Sul  
2025**



Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

B579r Biazatti, Renan Marré  
RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS, ENZIMÁTICAS E ANATÔMICAS AO MITIGAR O ESTRESSE HÍDRICO COM USO DE Chlorella sp. EM MUDAS Cedrela fissilis Vell. [recurso eletrônico] / Renan Marré Biazatti. -- 2025.  
Arquivo em formato pdf.

Orientadora: Sílvia Correa Santos.  
Tese (Doutorado em Agronomia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2025.  
Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:  
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Cedro Rosa. 2. estresse hídrico. 3. microalga. 4. bioestimulante. 5. mudanças climáticas. I. Santos, Sílvia Correa. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.



ATA DA DEFESA DE TESE DE DOUTORADO APRESENTADA POR RENAN MARRÉ BIAZATTI, ALUNO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO "PRODUÇÃO VEGETAL".

Ao primeiro dia do mês de agosto do ano de dois mil e vinte e cinco, às oito horas, em sessão pública, realizou-se na Universidade Federal da Grande Dourados, a Defesa de Tese de Doutorado intitulada **"RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS, ENZIMÁTICAS E ANATÔMICAS AO MITIGAR O ESTRESSE HÍDRICO COM USO DE Chlorella sp. EM MUDAS Cedrela fissilis Vell "**, apresentada pelo doutorando Renan Marré Biazatti, do Programa de Pós-graduação em Agronomia, à Banca Examinadora constituída pelos membros: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sílvia Correa Santos/UFGD (presidente/orientadora), Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Alessandra Mayumi Tokura Alovisi/UFGD (membro titular interno), Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Silvana de Paula Quintao Scalon/UFGD (membro titular interno), Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elissandra Pacito Torales/UNEMAT (membro titular interno), Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Shaline Sefara Lopes Fernandes/UEMS (membro titular externo). Iniciados os trabalhos, a presidência deu a conhecer ao candidato e aos integrantes da banca as normas a serem observadas na apresentação da Tese. Após o candidato ter apresentado a sua Tese, os componentes da Banca Examinadora fizeram suas arguições. Terminada a Defesa, a Banca Examinadora, em sessão secreta, passou aos trabalhos de julgamento, tendo sido o candidato considerado aprovado. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, que vai assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Dourados/MS, 01 de agosto de 2025.

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** SILVIA CORREA SANTOS  
Data: 01/08/2025 18:54:02-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sílvia Correa Santos  
Presidente/orientadora

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** ALESSANDRA MAYUMI TOKURA ALOVISI  
Data: 04/08/2025 09:57:08-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Alessandra Mayumi Tokura Alovisi  
Membro Titular Interno

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** SILVANA DE PAULA QUINTAO SCALON  
Data: 04/08/2025 13:05:23-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Silvana de Paula Quintao Scalon  
Membro Titular Interno

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** ELISSANDRA PACITO TORALES  
Data: 01/08/2025 23:44:03-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elissandra Pacito Torales  
Membro Titular Interno

SHALINE SEFARA  
LOPES  
FERNANDES:0155  
9728124

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Shaline Sefara Lopes Fernandes  
Membro Titular Externo

Assinado de forma digital  
por SHALINE SEFARA  
LOPES  
FERNANDES:01559728124  
Dados: 2025.08.04 09:23:30  
-04'00"

(PARA USO EXCLUSIVO DA PROPP)

*“O vento que apaga a vela é o mesmo que fortalece o fogo.”*

**Provérbio do Oriente Médio**

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus por ter seguido comigo em toda minha vida.

À minha mãe Gloria Marré Biazatti, ao meu pai Jadir Ventorim Biazatti e à minha irmã Scheila Cristina Biazatti, Minha eterna gratidão por tudo que sou e conquistei. Mãe, sua voz forte e amorosa me guiou nos momentos mais difíceis e me lembrou, todos os dias, da importância de seguir com fé, coragem e coração aberto. Pai, seu exemplo de sabedoria, honestidade e calma foi meu alicerce. Scheila, obrigada por ser meu porto seguro, minha confidente e minha parceira em todos os momentos. Vocês são minha base, minha força e meu maior tesouro. AMO VOCÊS INFINITAMENTE.

A Família Biazatti e Marré em especial minhas Avós Ozilia Ventorim (*in memoriam*) e Penha Sevim, meu avô Amelio Biazatti, meu Padrinho Jose Nildo Biazatti, e ao meus tios João Luiz Biazatti, Conceição Aparecida Biazatti de Araujo, Gasparina Marré, Cristina Marré, Braz Marré, Isabel Pontini, Cristiane Camata e James Boffetti por acreditar no meu sonho e sempre me motivar a seguir em frente.

À minha orientadora, Dra. Silvia Correa Santos, deixo registrada minha gratidão mais profunda e emocionada. Sua orientação ultrapassou os limites da pesquisa acadêmica, foi apoio nos momentos difíceis, inspiração constante nos caminhos da ciência e presença firme e generosa nas incertezas do percurso. Mais do que uma excelente professora, você foi e é um verdadeiro exemplo de luz e humanidade. Com seus conselhos firmes, suas palavras de fé, e até mesmo nas caronas embaladas por músicas que falavam de Deus, você reavivou em mim a certeza de que há pessoas iluminadas nesta vida, daquelas raras que nos ajudam a manter acesa a chama da esperança, da espiritualidade e da coragem de continuar. Sou imensamente grato por tudo: pelos puxões de orelha necessários, pela amizade construída, pelos ensinamentos compartilhados com tanto cuidado, e principalmente por acreditar em mim. Graças ao seu apoio e incentivo, conquistei um sonho, a aprovação no concurso público e levo comigo a certeza de que essa vitória também é sua. Obrigado por ter caminhado ao meu lado como guia, mestre e exemplo de fé, ética e sabedoria.

E a todos os professores que ao longo da minha vida transmitiram seus conhecimentos para minha formação.

Gostaria de agradecer ao grupo de pesquisa Frutigran pela oportunidade de colaboração e pelo ambiente produtivo que contribuiu significativamente para o meu

desenvolvimento acadêmico. Cada membro do grupo desempenhou um papel fundamental, proporcionando suporte e promovendo discussões enriquecedoras que foram essenciais para alcançarmos resultados positivos. Sou muito grato por fazer parte desta equipe excepcional.

Aos meus Amigos da pós graduação e também que os fiz no estado do Mato Grosso do Sul Tiago Taira, Elissandra Pacito, , Catia Diniz, Sergio, Camila, , Mary, Dona Elza (*in memoriam*), Rafael Carvalho, Priscila Maria, Vanda Maria, Jesica Monico, Tiago Taira, Nardelio Teixeira, Patricia Zomerfeld, Natalia Penzo, Natalia Lima, Jerusa Cariaga, Michelly Cinquino, James Luan, Heloisa Martins e Leandro Miranda, Rosimeire Gauna, vocês foram mais que colegas foram refúgio nos dias difíceis, parceiros de trabalho, de estudo, de provas, de projetos e até das famosas “fofocas acadêmicas” que nos rendiam boas risadas. Cada conversa no corredor, cada trabalho em grupo, cada dúvida compartilhada e superada em conjunto fez esse caminho ser mais leve, mais divertido e muito mais humano. Obrigado por tornarem meus dias mais felizes e por caminharem ao meu lado nessa jornada. Levo comigo não só o conhecimento construído, mas a alegria de ter convivido com pessoas tão do bem, generosas e inspiradoras. Que a vida continue nos cruzando pelos caminhos da ciência e da amizade.

E a todos os meus amigos da vida: Janete Milani, Jani, Elisangela Mesquita, Eduardo Francisco, Rafaela Brancalione, Neuza, Roselaine, Carla, Vanessa Pelissaro, Eliza Cielo, Micheli Aline, Franciele, Alex Mariano, Marcia, Erika, Ivelise, Joelma Murliki, Milka Samara, Maria Luiza Pegorer, Katiane Viana, Caren Rodrigues, Daiane Ceccon, Denize Perles, Ana Claudia Gervoni, Vanessa Rossow, Paula Fank, Aline Vieira, Maylon Roberto, Josiele antonielle, Vanessa Manetti, Lucas Henrique, Beatriz Cruz, Bruna Quintino, Kellyson, Nina, Gabriela Brancalione, Jilvana Barbara por todos os momentos felizes compartilhados e também pelo apoio nos momentos difíceis que mesmo com a distância vocês sempre estiveram presentes e me ajudaram durante minha jornada de vida, com um gesto de carinho ou uma palavra amiga. É muito bom saber que tenho vocês sempre comigo, meus bons e velhos amigos, vocês são a prova de que Deus coloca anjos em nosso caminho, amo vocês. Amo vocês!

À Carolina Queiroz Taira, meu agradecimento mais especial e emocionado. Carolina, você não foi apenas a técnica de laboratório mais competente e dedicada com quem já tive o privilégio de trabalhar, você foi porto seguro, parceria diária e amiga para todas as horas. Seu profissionalismo impecável, sua leveza no dia a dia, sua alegria



contagiante e sua disposição incansável tornaram o laboratório não só um espaço de trabalho, mas um verdadeiro lar acadêmico. Você esteve ao meu lado em momentos decisivos, me acolheu, me ajudou, me escutou e riu comigo quando mais precisei. O brilho da sua presença tornou os dias mais fáceis, e seu apoio incondicional foi essencial para que eu chegasse até aqui. Sou grato além das palavras. Levo comigo não só o aprendizado técnico que você compartilhou com tanta generosidade, mas a amizade sincera que construímos. Obrigado por ser exatamente como é: uma pessoa iluminada, inspiradora e inesquecível.

Agradeço imensamente a minha Psicóloga Dr<sup>a</sup> Giliane Schmitz por não deixar me desaminar em momentos difíceis e mostrar os melhores caminhos a seguir e me ensinando a compreender e controlar meus sentimentos.

Agradeço profundamente aos amigos que a vida me deu na fase final desta caminhada, já após a conquista do concurso, e que se tornaram minha família onde hoje estou. Kethelin Pussi, Eduardo Philippsen, Ronaldy Felipe, Mariana Luisa, Carina Sartori e Guilherme Nunes: vocês foram abrigo, apoio, risada, silêncio compreendido e força nos momentos em que tudo parecia pesado demais. Com vocês, reencontrei leveza, afeto genuíno e a certeza de que mesmo longe das raízes, é possível criar laços fortes, verdadeiros e duradouros. Obrigado por estarem ao meu lado com tanto amor, presença e parceria. Vocês são parte essencial dessa vitória.

Enfim, a todos que de forma direta ou indireta contribuíram não só com esse trabalho, mas ao longo de toda jornada.

A Universidade Federal da Grande Dourados, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia pela oportunidade de realização do Doutorado e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de incentivo concedida.

## LISTAS DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

- Figura -0-1** - Índice de Plasticidade Fenotípica (IPF), Índice qualidade de Dickson (DQI), a Massa Seca da Parte Aérea (MSPA) e a Massa Seca Total (MST) em mudas de *C. fissilis* em função de doses de *Chlorella sp.*..... 35
- Figura- 0-2-** Taxa de fotossíntese líquida (A), eficiência carboxilativa (A/Ci), Transpiração(E) e eficiência do uso da água (WUE) em mudas de *C. fissilis* . em função de doses crescentes de *Chlorella sp.*, avaliadas no início do Experimento (T0) ..... 37
- Figura -0-3-**Taxa de fotossíntese líquida (A), eficiência carboxilativa (A/Ci), concentração interna de carbono (Ci), Condutância estomática (gs), -Transpiração(E), eficiência do uso da água (que) e limitação estomática (Li) em mudas de *C. fissilis* . em condição de fotossíntese zero em função de doses de *Chlorella sp.*, avaliadas no período F0..... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura-0-4-** Clorofila a, Clorofila b, Fluorescência Máxima (FM), Fluorescência variável (FV), eficiência quântica máxima do PSII, em mudas de *C. fissilis* em condição de fotossíntese zero em função de doses crescentes de *Chlorella sp.*, avaliadas no período F0..... 40
- Figura -0-5-** (A) Índice de Qualidade de Dickson (DQI), (B) Índice de Plasticidade Fenotípica (IPF), (C) Massa Seca da Parte Aérea (MSPA), (D) Altura de planta, (E) Massa seca de raízes, (F) Comprimento de raízes, (G) Diâmetro do coleto, (H) Matéria seca total, (I) Área foliar sob 40% (a) e 70% (b) da capacidade de retenção de água (CRA) e (J) Índice de clorofila (SPAD) sob 40% (a) e 70% (b) da CRA em mudas de *C. fissilis* . em função de doses crescentes de *Chlorella sp.*, avaliadas no período F0..... 43
- Figura -0-6-** (A) Taxa de fotossíntese líquida de CO<sub>2</sub> (A), (B) eficiência carboxilativa (A/Ci), (C) taxa de transpiração (E), (D) condutância estomática (g<sub>s</sub>), (E) eficiência do uso da água (WUE), (F) limitação estomática (Li) e (G) concentração interna de CO<sub>2</sub> (Ci) sob 40% (a) e 70% (b) da capacidade de retenção de água (CRA) em mudas de *C. fissilis* . em função de doses crescentes de *Chlorella sp.*, avaliadas aos 100 dias após o retorno das plantas às condições hídricas ideais. .... 44
- Figura -0-7-** (A) Fluorescência máxima (Fm), (B) fluorescência variável (Fv), (C) relação F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>, (D) eficiência quântica máxima do PSII (F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>), (E) razão F<sub>v</sub>/F<sub>o</sub>, (F) F<sub>v</sub>/M, (G) clorofila a, (H) clorofila b e (I) índice de clorofila (SPAD) em mudas de *C. fissilis* . em função de doses crescentes de *Chlorella sp.*. avaliadas aos 100 dias após o retorno das plantas às condições hídricas ideais..... 46
- Figura -0-8-** (A) Área foliar; (B) Massa seca da parte aérea (MSPA); (C) Altura de planta; (D) Comprimento de raiz; (E) Diâmetro do caule; (F) Matéria seca total; (G) Massa seca de raízes sob 40% da capacidade de retenção de água (CRA); (H) Massa seca de raízes sob 70% da CRA, em mudas de *C. fissilis* . em função de doses crescentes de *Chlorella sp.*, avaliadas 100 dias após o retorno às condições hídricas ideais ..... 48

**Figura-0-9-** (A) Índice de Qualidade de Dickson (DQI) sob (a) 40% e (b) 70% da capacidade de retenção de água (CRA); (B) Índice de Plasticidade Fenotípica (IPF) sob (a) 40% e (b) 70% da CRA, em mudas de *C. fissilis* . na fase de recuperação 100 dias após o retorno às condições hídricas ideais, em função de doses crescentes de *Chlorella* sp..... 50

## CAPÍTULO II

**Figura 0-1** Parâmetros bioquímicos avaliados em mudas de *C. fissilis* submetidas a doses crescentes de *Chlorella* sp. A) Atividade da superóxido dismutase (SOD); B) Atividade da catalase (CAT); C) Atividade da peroxidase (POD); D) Teor de proteínas solúveis total; E) Prolina, avaliadas no início do Experimento (T0) ..... 73

**Figura 0-2-**Teores foliares de macronutrientes em mudas de *C. fissilis* submetidas a doses crescentes de *Chlorella* sp. em condições hídricas ideal. A) Nitrogênio (N); B) Potássio (K); C) Magnésio (Mg); D) Fósforo (P); E) Cálcio (Ca). ..... 75

**Figura 0-3-**Parâmetros anatômicos foliares de mudas de *C. fissilis* tratadas com doses crescentes de *Chlorella* sp. em condições hídricas ideal. A) Espessura do parênquima paliçádico (PP); B) Espessura do parênquima lacunoso (LP); C) Diâmetro equatorial dos estômatos; D) Espessura da epiderme Adaxial, E) Espessura da epiderme Abaxial, F) Diâmetro polar. .... 76

**Figura 0-4-**Análise paradérmica do parênquima lacunoso (LP), parênquima paliçádico (PP), epiderme (E) e epiderme abaxial (EB), de folhas de *C. fissilis* sob doses crescentes de *Chlorella* sp. (0; 2,5; 5,0; e 7,5 mL L<sup>-1</sup>) em condições hídricas ideal. .... 77

**Figura 0-5-**Densidade estomática em folhas totalmente expandidas de *Cedrela fissilis* Vell. sob doses crescentes de *Chlorella* sp. em condição hídrica ideal. .... 78

**Figura 0-6-**Dimensões estomáticas em folhas de *C. fissilis* sob diferentes doses de *Chlorella* sp. em condições hídricas ideal. (L: Comprimento, W:largura) ..... 79

**Figura 0-7-**Parâmetros bioquímicos em mudas de *C. fissilis* . mantidas sob 40% e 70% da capacidade de retenção de água (CRA) e tratadas com doses crescentes de *Chlorella* sp. Em condições de fotossíntese zero A) Teor de proteínas solúveis totais; B) Atividade da superóxido dismutase (SOD); C) Peroxidase (POD); D) Prolina; E) Catalase (CAT). ..... 81

**Figura 0-8-**Teores foliares de macronutrientes em mudas de *C. fissilis* . cultivadas sob dois níveis de disponibilidade hídrica 40% e 70% da capacidade de retenção de água no solo - CRA e tratadas com doses crescentes de *Chlorella* sp. A) Nitrogênio (N); B) Fósforo(P); C) Potássio (K); D) Magnésio (Mg); E) Cálcio (Ca). ..... 82

**Figura 0-9-**Parâmetros anatômicos foliares em mudas de *C. fissilis* cultivadas sob dois níveis de disponibilidade hídrica (40% e 70% da capacidade de retenção de água no solo CRA) e tratadas com doses crescentes de *Chlorella* sp. Em condição de fotossíntese zero

A) Parênquima paliçádico (PP), B) Parênquima lacunoso (LP); C) Epiderme adaxial (E); D) Epiderme abaxial (EB); E) Índice estomático; F) Diâmetro polar dos estômatos. ... 83

**Figura 0-10**-Corte transversal da lâmina foliar de *C. fissilis* submetida a 70% da capacidade de retenção de água (CRA), sob aplicação de diferentes doses de *Chlorella* sp. .... 85

**Figura 0-11**-Micrografias paradérmicas da densidade estomática da epiderme abaxial de folhas de *C. fissilis* sob 70% da CRA, em função das doses de *Chlorella* sp. .... 86

**Figura 0-12**-Imagens paradérmicas evidenciando as dimensões estomáticas da epiderme abaxial de *C. fissilis* sob 70% da CRA, em condição de fotossíntese zero (largura – W e comprimento – L) em função de doses crescentes de *Chlorella* sp. .... 87

**Figura 0-13** Anatomia transversal da lâmina foliar de *C. fissilis* cultivada sob 40% da capacidade de retenção de água (CRA), evidenciando a espessura da epiderme adaxial (E), parênquima paliçádico (PP), parênquima lacunoso (LP) e epiderme abaxial (EB), em função de doses crescentes *Chlorella* sp. em condições de fotossíntese zero. .... 88

**Figura 0-14**-Imagens paradérmicas da epiderme abaxial de *C. fissilis* sob 40% CRA, evidenciando a densidade estomática nas diferentes doses de *Chlorella* sp. em condições de fotossíntese zero..... 89

**Figura 0-15**- Medidas do comprimento (L) e largura (W) dos estômatos de *C. fissilis* sob 40% CRA em função de doses crescentes *Chlorella* sp. em condições de fotossíntese zero. .... 90

**Figura 0-16**-Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e peroxidase(POX), e acúmulo de prolina em folhas de plantas de *C. fissilis* ., em função de doses crescentes de *Chlorella* sp., sob duas condições de disponibilidade hídrica em condição de recuperação (REC). .... 91

**Figura 0-17**-Teores foliares de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), magnésio (Mg) e cálcio (Ca) em plantas de *C. fissilis* . avaliadas em função de doses crescentes de *Chlorella* sp., sob duas condições de disponibilidade hídrica em condição de recuperação. .... 92

## LISTA DE TABELAS

### CAPITULO I

Tabela 1-Resultados da análise de deviance para o Evaluation="F0" (**, significativo a 5% pelo teste F) seguidos do coeficiente de variação (CV) e do valor p do teste de Normalidade (pSW).....	38
--	----

### SUMÁRIO

RESUMO GERAL .....	16
ABSTRACT .....	17
	13

INTRODUÇÃO GERAL .....	18
1.0 Agricultura em Cenários de Mudanças Climáticas: Efeitos Ambientais, Socioeconômicos e Conexões com os ODS .....	18
1.1 Stress hídrico e suas alterações nas plantas. ....	20
1.2 Efeito da microalga ( <i>Chlorella</i> sp.) em plantas sob déficit hídrico .....	22
1.3 Características ecofisiológicas do <i>Cedrela fissilis</i> Vell.....	23
HIPÓTESE .....	24
OBJETIVOS.....	24
Objetivo geral .....	24
Objetivos específicos .....	25
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	25
CAPÍTULO 1- <i>Chlorella</i> sp.: uma estratégia bioestimulante para a produção de mudas de cedro rosa sob estresse hídrico. ....	29
RESUMO .....	29
ABSTRACT .....	29
INTRODUÇÃO.....	30
MATERIAL E MÉTODOS .....	32
RESULTADOS.....	35
AVALIAÇÃO INICIAL: T0 .....	35
AVALIAÇÃO: FOTOSSÍNTESE 0 (F0) .....	38
AVALIAÇÃO: RECUPERAÇÃO (REC).....	43
DISCUSSÃO.....	50
AVALIAÇÃO INICIAL : 0.....	50
AVALIAÇÃO: FOTOSSÍNTESE 0 (F0) .....	53
AVALIAÇÃO: RECUPERAÇÃO (REC).....	57
CONCLUSÃO.....	59
REFERÊNCIAS .....	60
CAPÍTULO 2 – A BIOESTIMULAÇÃO COM <i>Chlorella</i> sp. INDUZ AJUSTES ENZIMÁTICOS, ANATÔMICOS E NUTRICIONAIS CAPAZES DE ATENUAR O ESTRESSE HÍDRICO EM <i>Cedrela fissilis</i> Vell? .....	66
RESUMO .....	66
ABSTRACT .....	66
INTRODUÇÃO.....	67
MATERIAL E MÉTODOS .....	69
RESULTADOS.....	71
Avaliação 0 (inicial caracterização) .....	72

Avaliação: F0 .....	79
Avaliação REC.....	91
DISCUSSÃO.....	93
Avaliação 0.....	93
Avaliação F0 .....	95
Avaliação REC.....	99
CONCLUSÃO.....	102
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	103
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	110

**RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS, ENZIMÁTICAS E ANATÔMICAS  
AO MITIGAR O ESTRESSE HÍDRICO COM USO DE *Chlorella sp.* EM  
MUDAS *Cedrela fissilis* Vell.**

**RESUMO GERAL**

A intensificação das mudanças climáticas tem acarretado impactos significativos sobre os ecossistemas naturais e produtivos, exigindo da ciência soluções sustentáveis para a adaptação e mitigação desses efeitos, sobretudo na formação de espécies florestais nativas com elevado valor ecológico e econômico. Dentre essas espécies, destaca-se *C. fissilis*, pertencente à família Meliaceae, atualmente ameaçada de extinção devido à exploração predatória e à baixa taxa de regeneração natural. A presente tese teve como objetivo avaliar os efeitos da aplicação foliar da microalga *Chlorella sp.* sobre variáveis morfoanatômicas, fisiológicas, nutricionais e bioquímicas de mudas de *C. fissilis* submetidas a diferentes níveis de estresse hídrico, visando identificar respostas adaptativas que subsidiem práticas de cultivo mais resilientes e ecologicamente adequadas. A pesquisa foi conduzida em ambiente controlado, utilizando delineamento blocos casualizados, com tratamentos dispostos em esquema fatorial composto por quatro doses de *Chlorella sp.* (0, 2,5, 5,0 e 7,5 mL planta<sup>-1</sup>) e dois níveis de capacidade de retenção de água (70% – condição hídrica adequada – e 40% da CRA – condição de estresse hídrico). As análises contemplaram o crescimento, os atributos fisiológicos (assimilação de CO<sub>2</sub>, condutância estomática, transpiração, eficiência do uso da água, fluorescência da clorofila), teor nutricional de macro e micronutrientes, caracterização anatômica foliar (espessura da epiderme, parênquima paliçádico e lacunoso), morfometria e densidade estomática além da atividade de enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD) e peroxidase (POD). Os resultados demonstraram que a aplicação de *Chlorella sp.* modulou significativamente a estrutura anatômica foliar das mudas, especialmente sob condições de estresse hídrico, promovendo o espessamento dos tecidos fotossintético, notadamente o parênquima paliçádico e contribuindo para o aumento da densidade estomática. Esses ajustes estruturais indicam um mecanismo adaptativo potencialmente associado à maximização da eficiência fotossintética e à regulação da perda de água, conferindo maior resistência funcional ao déficit hídrico. As doses intermediárias (2,5 e 5,0 mL planta<sup>-1</sup>) resultaram em ganhos significativos na



fotossíntese líquida, na eficiência de carboxilação (A/Ci) e na eficiência do uso da água (WUE), mesmo sob déficit hídrico, indicando efeito bioestimulante da microalga. Os teores foliares de nutrientes essenciais apresentaram melhora significativa com o uso de *Chlorella* sp., sugerindo influência direta na absorção e metabolismo mineral. Além disso, observou-se aumento na atividade antioxidante das enzimas SOD e POD, refletindo maior capacidade de resposta ao estresse oxidativo. Conclui-se que a aplicação foliar de *Chlorella* sp. representa uma tecnologia promissora para a indução de tolerância ao estresse hídrico em mudas de *Cedrela fissilis*, contribuindo para a produção de plantas com melhor desempenho morfofisiológico e bioquímico sob condições adversas. A utilização dessa microalga como bioinsumo integra os princípios da sustentabilidade e da bioeconomia, sendo uma alternativa viável para programas de restauração ecológica e produção florestal adaptada às condições impostas pelas mudanças climáticas globais.

**Palavras-chave:** Cedro Rosa; estresse hídrico; microalga; bioestimulante; mudanças climáticas.

## ABSTRACT

The intensification of climate change has led to significant impacts on natural and productive ecosystems, demanding sustainable scientific solutions for both adaptation and mitigation particularly regarding the cultivation of native forest species with high ecological and economic value. Among these species, *C. fissilis*, from the Meliaceae family, stands out, currently classified as threatened with extinction due to predatory exploitation and low natural regeneration rates. This thesis aimed to evaluate the effects of foliar application of the microalga *Chlorella* sp. on morpho-anatomical, physiological, nutritional, and biochemical variables of *C. fissilis* seedlings subjected to different levels of water stress, in order to identify adaptive responses that support more resilient and ecologically sound cultivation practices. The research was conducted under controlled environmental conditions, using a randomized block design with treatments arranged in a factorial scheme consisting of four doses of *Chlorella* sp. (0, 2.5, 5.0, and 7.5 mL plant<sup>-1</sup>) and two water retention levels (70% – adequate water condition – and 40% of the water retention capacity – water stress condition). The analyses included seedling growth, physiological attributes (CO<sub>2</sub> assimilation, stomatal conductance, water use efficiency,

chlorophyll fluorescence), foliar macro- and micronutrient content, anatomical characterization of the leaves (epidermal, palisade, and spongy parenchyma thickness), stomatal morphometry and density, and the activity of the antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD). The results demonstrated that the application of *Chlorella sp.* significantly modulated the anatomical structure of the leaves, especially under water stress conditions, promoting thickening of the photosynthetic tissues—particularly the palisade parenchyma—and contributing to increased stomatal density. These structural adjustments suggest an adaptive mechanism potentially associated with maximizing photosynthetic efficiency and regulating water loss, conferring greater functional resistance to drought conditions. Intermediate doses (2.5 and 5.0 mL plant<sup>-1</sup>) led to significant gains in net photosynthesis, carboxylation efficiency (A/Ci), and water use efficiency (WUE), even under water deficit, indicating a biostimulant effect of the microalga. The foliar contents of essential nutrients showed significant improvement with the use of *Chlorella sp.*, suggesting a direct influence on mineral absorption and metabolism. Additionally, an increase in antioxidant activity of SOD and POD enzymes was observed, reflecting an enhanced capacity to respond to oxidative stress. It is concluded that the foliar application of *Chlorella sp.* represents a promising technology for inducing drought tolerance in *Cedrela fissilis* seedlings, contributing to the production of plants with improved morphophysiological and biochemical performance under adverse conditions. The use of this microalga as a bioinput aligns with the principles of sustainability and bioeconomy, presenting a viable alternative for ecological restoration programs and forest production adapted to the challenges posed by global climate change.

**Keywords:** Spanish cedar; water stress; microalga; biostimulant; climate change.

## INTRODUÇÃO GERAL

### **1.0 Agricultura em Cenários de Mudanças Climáticas: Efeitos Ambientais, Socioeconômicos e Conexões com os ODS**

A mudanças climáticas representam um dos grandes desafios mais prementes e complexos enfrentados pela humanidade no século XXI. Com o aumento das emissões

de gases de efeito estufa decorrentes de atividades antrópicas, o clima global está passando por transformações significativas, com impactos que reverberam em todos os cantos do planeta terra (MONTIBELLERE et al., 2020).

O Brasil tem enfrentado um aumento alarmante no desmatamento nas últimas décadas, o que tem contribuído significativamente para as mudanças climáticas em curso. A rápida expansão do desmatamento resultou na criação de fragmentos florestais e na redução de grandes áreas de florestas, especialmente no cerrado. Essa degradação ambiental tem impactado diretamente no clima, uma vez que as florestas desempenham papel fundamental na regulação do ciclo da água e na absorção de dióxido de carbono na atmosfera (COLMAN et al., 2022).

Um dos principais impactos das mudanças climáticas é o aumento da temperatura média global. Este aquecimento está provocando o derretimento das calotas polares e geleiras, elevando o nível do mar e ameaçando comunidades costeiras em todo o mundo. Além disso, tem desencadeado diversos eventos extremos, como furacões, secas, enchentes e ondas de calor mais intensas e frequentes, acarretando danos devastadores a infraestrutura, a agricultura e biodiversidade (SOTERRONI et al., 2019).

Outra consequência das alterações climáticas são as mudanças nos padrões de precipitação. Em determinadas regiões que são mais propensas a períodos de estiagem, estas têm se tornando mais prolongadas e severas, impactando diretamente na quantidade total de chuva ao longo do ano e nos reservatórios naturais, o que por sua vez leva a escassez de água. Essas implicações afetam as atividades agrícolas resultando em baixas produtividades, escassez de alimento, aumento dos preços dos produtos prejudicando a segurança alimentar (KONAPALA et al., 2020).

Diante destes desafios, a organização das nações unidas (ONU), estabeleceu os objetivos do desenvolvimento sustentável (ODS), com o intuito orientar ações, respostas e orientações na abordagem de tais problemas. As mudanças climáticas representam um desafio urgente e interconectado que afeta diretamente vários ODS, como a ODS 2 (Fome zero e agricultura Sustentável), ODS 13 (ação contra a mudança global do clima) e ODS 15 (vida terrestre). Esses objetivos projetam metas que guiam métodos de abordar as interseções entre segurança alimentar conservação dos ecossistemas e mitigação/adaptação as mudanças climáticas e lidar com os problemas climáticos de forma coordenada e eficaz, visando construir um futuro promissor e sustentável (NATIONS UNITED, 2015).

Em suma, as mudanças climáticas representam um desafio global que afeta diretamente diversos aspectos importantes, sendo um indicativo imperativo que sejam tomadas medidas urgentes e eficazes para enfrentar esses desafios, protegendo os recursos naturais, promovendo práticas sustentáveis e garantindo uma maximização da produção agrícola (CHEN et al., 2020).

### **1.1 Stress hídrico e suas alterações nas plantas.**

Os recursos hídricos são considerados um dos elementos naturais mais cruciais para a sustentação da vida e para o desenvolvimento socioeconômico de uma região. A água é essencial não apenas para o crescimento da vegetação, mas também para a vida terrestre. Estudos, como o de Dong et al. (2021), destacam a importância vital da água na manutenção dos ecossistemas e na facilitação de atividades econômicas variadas, desde a agricultura até a indústria.

Quando uma planta enfrenta déficit hídrico, suas relações hídricas e metabolismo são profundamente afetados. Este estresse hídrico induz uma série de respostas fisiológicas e bioquímicas adaptativas, sendo uma das principais a redução na taxa de fotossíntese devido ao fechamento estomático, que é mediado pelo aumento nos níveis de ácido abscísico (ABA). Os estômatos, ao se fecharem, diminuem a condutância estomática, restringindo a entrada de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e, conseqüentemente, limitando a fotossíntese, o que reduz a produção de energia e biomassa (BARTIERES et al., 2020).

É notório que o processo da fotossíntese, por exemplo, é altamente dependente da disponibilidade de água, e em situações adversas as plantas não conseguem realizar a fotossíntese de maneira eficaz, o que reduz a produção de energia e, conseqüentemente, o crescimento das plantas. Além disso, a água é necessária para a transpiração, um processo que ajuda a regular a temperatura das plantas e manter a pressão interna necessária para o transporte de nutrientes (TAIZ et al., 2017)

Além disso, o déficit hídrico provoca uma desaceleração no crescimento celular. A redução do potencial hídrico celular compromete a turgidez, essencial para a expansão celular. Isso resulta em um crescimento vegetativo retardado, evidenciado por folhas menores e entrenós mais curtos (BARBOSA et al., 2021).

Outro agravante são as mudanças bioquímicas que ocorrem, como a alteração na fluorescência da clorofila *a* que sinaliza e indica como o estresse está afetando a saúde e o funcionamento da planta (ASHRAF, 2012; REIS et al., 2020).

No contexto do déficit hídrico, as plantas respondem aumentando a eficiência de seus sistemas antioxidantes para mitigar o estresse oxidativo provocado pelo aumento na produção de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO). Essas ERO são moléculas altamente reativas que podem causar danos às estruturas celulares vegetais (SAED-MOUCHESHI et al., 2014).

Durante períodos de estresse hídrico, a ativação do sistema antioxidante das plantas desempenha um papel crucial na neutralização das ERO, preservando a integridade celular. A eficácia desse sistema antioxidante varia significativamente entre espécies vegetais e está diretamente correlacionada com a capacidade da planta de tolerar condições adversas de déficit hídrico (BHASKARA et al., 2015).

Segundo o mesmo autor um mecanismo crucial durante o estresse hídrico é o acúmulo de prolina, um aminoácido que atua como osmorregulador nas plantas e desempenha um papel vital na regulação do equilíbrio hídrico celular. Em condições de déficit hídrico, as plantas aumentam a síntese e acumulação de prolina, o que eleva a osmolaridade celular. A osmolaridade reflete a concentração de solutos em uma solução e, ao aumentá-la, a prolina contribui para a redução do potencial osmótico da célula. Isso permite à planta reter mais água, fundamental para manter a turgidez celular, que é a pressão interna que sustenta a forma e a estrutura da planta

O estresse causado pelo déficit hídrico é reconhecido como um dos fatores abióticos mais limitantes para o desenvolvimento das plantas cultivadas. A água é indispensável para a fotossíntese, a respiração celular, o transporte de nutrientes e a manutenção da turgidez celular, que é crucial para o crescimento e a estrutura das plantas (SCALON et al., 2020).

Portanto, a gestão eficiente dos recursos hídricos é vital para garantir a sustentabilidade agrícola e florestal. É necessário desenvolver e implementar estratégias de manejo que possam minimizar os impactos do déficit hídrico. Isso pode incluir técnicas como a irrigação eficiente, a seleção de culturas mais resistentes à seca, e práticas agrícolas que conservem a água no solo e aumente a rusticidades das espécies vegetais.

## 1.2 Efeito da microalga (*Chlorella* sp.) em plantas sob déficit hídrico

Os bioestimulantes provenientes de extratos de algas têm se destacado como uma nova ferramenta a auxiliar a nutrição das plantas e melhorar a resiliência vegetal aos mais diversos estresses ambientais (CRUSCIOL et al., 2017; TOMBESI et al., 2021).

Muitos estudos vêm se desenvolvendo em relação ao uso de produtos que apresentam em sua composição microalga que podem apresentar em sua composição espécies diferentes de alga como as *Acutodesmus dimorphus*, *Spirulina plantesis*, *Scenedesmus* spp. entre outras, objetivando o uso desses extratos como bioestimulantes promovendo uma melhor nutrição das plantas. (SINGH et al., 2016; (GARCIA-GONZALEZ e SOMMERFELD, 2016)

Devido aos altos níveis de compostos bioativos presentes em sua formulação, esses extratos apresentam não apenas características de estímulo ao crescimento vegetal, mas também atuam nas respostas de defesa da planta contra estresses abióticos, aumentam a fotossíntese, estimulam germinação de sementes, atuam na produtividade de algumas culturas, interferem na qualidade de frutos e auxiliam nas reduções de danos por algumas doenças (ALBUQUERQUE et al., 2019; TOMBESI et al., 2021).

O pré-tratamento com extrato de algas induz fechamento estomático parcial, associado a alterações nos níveis de expressão de genes envolvidos no sistema responsivo ao ácido abscísico (ABA) e enzimas antioxidantes. Assim, a pré-ativação dessas vias, resulta em alta capacidade das plantas tratadas com extrato de alga em manter um melhor desempenho do sistema fotossintético em comparação com as plantas não tratadas, durante o período de desidratação, combinado com uma maior capacidade de dissipar o excesso de energia como calor nos centros de reação do fotossistema II. Esse comportamento sugere que as plantas submetidas ao estresse hídrico tratadas com extrato de alga são capazes de manter o controle estomático e valores relativamente mais altos de eficiência do uso da água e condutância do mesófilo (SANTANIELLO et al., 2017).

A absorção e o transporte de nutrientes pelas plantas são diretamente afetados pelas condições hídricas do solo. O estresse hídrico reduz a atividade radicular e a disponibilidade de nutrientes na solução do solo, comprometendo a nutrição mineral das plantas. Nutrientes essenciais como nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) são particularmente sensíveis a essas alterações, impactando negativamente o metabolismo celular e o crescimento vegetal (TAIZ et al., 2017; KUSVURAN e CAN, 2020).

Diversos estudos demonstram que a aplicação de bioestimulantes à base de microalgas como *Chlorella* sp., pode melhorar significativamente a absorção e o acúmulo de nutrientes em condições de limitação hídrica. Compostos bioativos presentes nesses extratos favorecem o desenvolvimento radicular, aumentando a área de absorção e promovendo a solubilização de nutrientes no solo (GAO et al., 2021; LI et al., 2019). Além disso, o fornecimento de microalgas estimula a atividade de transportadores iônicos e a expressão de genes relacionados à nutrição mineral, reforçando a homeostase nutricional mesmo sob estresse (CHENG et al., 2022; MOON et al., 2024).

Esse efeito benéfico sobre o estado nutricional contribui para maior eficiência fotossintética, maior produção de biomassa e ativação de mecanismos bioquímicos de defesa. Assim, o uso de bioestimulantes de origem microalgal apresenta-se como uma estratégia promissora para mitigar os efeitos negativos da seca na nutrição e no desempenho fisiológico de espécies florestais e agrícolas.

### **1.3 Características ecofisiológicas do *Cedrela fissilis* Vell.**

O Cedro Rosa (*C. fissilis*) é uma espécie arbórea nativa do Brasil, pertencente à família Meliaceae. Ela é encontrada em diversas regiões, incluindo a Amazônia, o Cerrado e a Mata Atlântica e em seu estágio adulto, é uma árvore caducifólia de grande porte.

Ecologicamente, o Cedro Rosa se classifica no grupo das espécies secundárias iniciais ou tardias, ocorrendo tanto em florestas primárias quanto em clareiras e florestas secundárias. Devido a essa característica, é recomendada para programas de recuperação de áreas degradadas (JUNIO et al., 2012). O Cedro Rosa prefere solos úmidos e profundos, típicos de vales e planícies. Ela floresce entre agosto e setembro, e seus frutos amadurecem com a árvore desfolhada entre junho e agosto (CECCON et al., 2006). Como planta decídua, o Cedro Rosa adapta-se bem em diversos tipos de florestas, incluindo florestas primárias e secundárias.

Economicamente, o Cedro Rosa possui grande importância devido ao seu alto valor madeireiro e oleífero, sendo amplamente utilizado na fabricação de móveis e outros produtos de madeira (ZACHARIAS et al., 2020; RODRIGUES et al., 2020). A madeira do Cedro Rosa é leve a moderadamente pesada, macia e muito durável em ambientes secos, mas degrada-se rapidamente quando enterrada ou em contato com a umidade

constante (HONORATO-SALAZAR et al., 2023). Este aspecto torna a madeira ideal para ambientes internos secos, onde sua durabilidade é maximizada (COELHO et al., 2024).

Além disso, a espécie tem potencial fitorremediador, especialmente em solos contaminados por metais pesados, como o cobre, comum em algumas regiões do Brasil (COVRE et al., 2020).

A espécie é indicada para reflorestamento e outras iniciativas de recuperação ambiental, devido à sua capacidade de crescimento rápido e resistência a várias condições climáticas. O reflorestamento com Cedro Rosa ajuda a restaurar áreas degradadas, contribuindo para a preservação da biodiversidade e a recuperação de serviços ecossistêmicos essenciais (CITES, 2007; ENGELBRECHT et al., 2007).

Em resumo, o Cedro Rosa é uma espécie multifuncional com significativas aplicações ecológicas, econômicas e ambientais, fazendo dela uma candidata ideal para projetos de reflorestamento e recuperação de áreas degradadas.

## **HIPÓTESE**

A aplicação de extratos de microalgas *Chlorella* sp. em mudas de *Cedrela fissilis* Vell. atue como biofertilizante e bioestimulante, promovendo a absorção eficiente de nutrientes e fornecendo compostos bioativos capazes de manter elevado o metabolismo fotossintético, potencializar a atividade do sistema antioxidante, estimular o crescimento e modificar características anatômicas foliares. Essas alterações fisiológicas, bioquímicas e estruturais, induzidas pelo extrato, podem mitigar os efeitos deletérios do déficit hídrico, favorecendo a manutenção da funcionalidade estomática, a eficiência no uso da água e a recuperação pós-estresse.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo geral**

Avaliar o efeito do uso do extrato de microalga (*Chlorella* sp.) no crescimento e na mitigação de danos no metabolismo fotossintético e enzimático, na indução de alterações morfisiológicas, anatômicas e antioxidante das mudas de *C. fissilis*, submetidas a diferentes disponibilidades hídricas.



## Objetivos específicos

- Avaliar os efeitos do extrato de microalga (*Chlorella* sp.) no crescimento e metabolismo fotossintético das mudas de *C. fissilis* **no ambiente de viveiro**
- Avaliar os efeitos do extrato de microalga (*Chlorella* sp.) na taxa fotossintética das mudas de *C. fissilis* sob diferentes condições de disponibilidade hídrica.
- Investigar o impacto do extrato de microalga (*Chlorella* sp.) na atividade enzimática das mudas de *C. fissilis*, especificamente enzimas antioxidantes, em resposta ao estresse hídrico.
- Analisar as alterações morfofisiológica e anatômicas das mudas de *C. fissilis* induzidas pelo tratamento com extrato de *Chlorella* sp. sob diferentes regimes de água.
- Avaliar a influência do extrato de microalga *Chlorella* sp. na capacidade de recuperação fisiológica, bioquímica e de crescimento de mudas de *Cedrela fissilis* Vell. após períodos de déficit hídrico, considerando parâmetros fotossintéticos, anatômicos e de eficiência hídrica, tanto no ambiente de viveiro quanto no pós-reidratação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, M.P.F.; MORAES, F.K.C.; SANTOS, R.I.N., CASTRO, G.L.S.; RAMOS,ALI, O.; RAMSUBHAG, A.; JAYARAMAN, J. Biostimulatory activities of *Ascophyllum nodosum* extract in tomato and sweet pepper crops in a tropical environment. **Plos One**, v. 14, n. 5, p. e0216710, 2019.

ASHRAF, M.A. Waterlogging stress in plants: A review. **African Journal of Agricultural Research**, v. 7, n. 13, p. 1976-1981, 2012.

BARBOSA, L. O.; DRESCH, D. M.; SCALON, L. Q.; SCALON, S. P. Q. Ecophysiological Strategies of *Cedrela fissilis* Vell. Seedlings under Conditions of Flooding and Light Availability. **Journal of Sustainable Forestry**, p.1-16, 2021.

BARTIERES, E. M. M.; SCALON, S. P. Q.; DRESCH, D. M.; CARDOSO, E. A. S.; JESUS, M. V.; PEREIRA, Z. V. Shading as a means of mitigating water deficit in

seedlings of *Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O. Berg. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj- Napoca**, v. 48, p. 234-244, 2020.

BHASKARA, G. B.; YANG, T. H.; VERSLUES, P. E. Dynamic proline metabolism: Importance and regulation in water limited environments. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 484, 2015.

BOLZA, E., CHRISTENSEN, F. **Wood density and hardness of some tropical species**. FAO Forestry Paper No. 21. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1979.

CECCON, E., HUANTE, P., RINCÓN, E. Abiotic factors influencing tropical dry forests regeneration. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.49, n.3, 305-312, 2006. DOI: 10.1590/S1516-89132006000400002

CHEN, M.; VERNON, C. R.; GRAHAM, N. T.; HEJAZI, M.; HUANG, M.; CHENG, Y.; CALVIN, K. Global land use for 2015–2100 at 0.05 resolution under diverse socioeconomic and climate scenarios. **Scientific Data**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2020.

CITES. **Fourteenth meeting of the Conference of the Parties (CoP14)**, Decision 14.146, Annex 4. The Hague, The Netherlands. CITES Document, 2017.

COELHO, T. L.; MAGNAGO, L. F. S.; MESQUITA, R. G. A.; VALLE, M. L. A. Effects of the climate gradient on the wood density of *Cedrela odorata* L. in the Neotropical region. **Floresta**, v. 54, e92633, 2024. DOI: 10.5380/rf.v54.92633.

COLMAN, C. B.; GUERRA, A.; DE OLIVEIRA ROQUE, F.; ROSA, I. M.; DE OLIVEIRA, P. T. S. Identifying priority regions and territorial planning strategies for conserving native vegetation in the Cerrado (Brazil) under different scenarios of land use changes. **Science of The Total Environment**, v. 807, p. 150998, 2022.

CRUSCIOL, C. A. C.; PULZ, A. L.; LEMOS, L. B.; SORATTO, R. P.; LIMA, G. P. P. Effects DE PASCALE, S.; ROUPHAEL, Y.; COLLA, G. Plant biostimulants: Innovative tool for enhancing plant nutrition in organic farming. **European Journal Horticulturae Science**, v. 82, n. 6, p. 277-285, 2017.

DONG, H.; FENG, Z.; YANG, Y.; LI, P.; YOU, Z. Sustainability assessment of critical natural capital: a case study of water resources in Qinghai Province. China. **Journal of Cleaner Production**, v. 286, p. 125532, 2021.

ENGELBRECHT, B. M. J., COMITA, L. S., CONDIT, R., KURSAR, T. A., TYREE, M. T., TURNER, B. L., HUBBELL, S. P. Drought sensitivity shapes species distribution patterns in tropical forests. **Nature**, v.447, n.7140, p.80-82, 2007. DOI: 10.1038/nature05747

GARCIA-GONZALEZ, J; SOMMERFELD, M. Biofertilizer and biostimulant properties of the microalga *Acutodesmus dimorphus*. **Journal of Applied Phycology**, v. 28, P.1051–1061, 2016.

HONORATO-SALAZAR, A.; CRUZ-VILLALOBOS, M.; VILLALOBOS-MARQUINA, M. A.; VILLALOBOS-CANO, J.; CERVANTES-DELGADO, J. Variability of some wood physical properties of ten *Cedrela odorata* L. clones. **Journal of Agricultural Sciences Research**, v. 3, n. 8, 2023. DOI: 10.22533/at.ed.973382309065.

JUNIO, M., SILVA, C., SANTOS, R. Recuperação de áreas degradadas com espécies nativas. **Revista de Ecologia e Conservação**, v.8, n.3, v.123-134, 2012.

KONAPALA, G.; MISHRA, A. K.; WADA, Y.; MANN, M. E. Climate change will affect global water availability through compounding changes in seasonal precipitation and evaporation. **Nature Communications**, v. 11, n. 1, p. 1-10, 2020.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2002.

MONTIBELLER, B.; KMOCH, A.; VIRRO, H.; MANDER, Ü.; UUEMAA, E. Increasing fragmentation of forest cover in Brazil's Legal Amazon from 2001 to 2017. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 1-13, 2020.

Nations United Resolution adopted by the General Assembly on 25 September 2015: Transforming our world: the 2030 SDG. p.22-35, 2015.

REIS, L. C.; SCALON, S. P.; DRESCH, D.; FORESTI, A. C.; SANTOS, C. C.; PEREIRA, Z. V. Chlorophyll a fluorescence as an indicator of water stress in *Calophyllum Brasiliense*. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 48, p. 210-220, 2020.

RODRIGUES, A., ALMEIDA, J. Óleos essenciais de *Cedrela fissilis* e suas aplicações. **Planta Medicinal**, v. 36, n. 4, p. 445-459, 2020. DOI: 10.1590/0102-695X20201694

SAED-MOUCHESHI, A.; SHEKOOFA, A.; PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species (ROS) generation and detoxifying in plants. **Journal of Plant Nutrition**, v. 37, n. 10, p. 1573-1585, 2014.

SANTANIELLO, A., SCARTAZZA, A., GRESTA, F., LORETI, E., BIASONE, A., DI TOMMASO, D., PERATA, P. *Ascophyllum nodosum* seaweed extract alleviates drought stress in *Arabidopsis* by affecting photosynthetic performance and related gene expression. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1362, 2017.

SCALON, S. P. Q.; KODAMA, F. M.; DRESCH, D. M.; PEREIRA, Z. V.; MUSSURY, R. M.; SCALON, L. Q. Gas Exchange in *Caryocar brasiliense* Cambess Seedlings in Water Deficit Conditions. **Floresta e Ambiente**. v. 27, p. 2, 2020.

SINGH, J.S; KUMAR, A.; RAI, A.N.; SINGH, D.P. Cyanobacteria: a precious bio-resource in agriculture, ecosystem, and environmental sustainability. **Frontiers in Microbiology**. v.7, p. 1-19, 2016.

SOTERRONI, A. C.; RAMOS, F. M.; MOSNIER, A.; FARGIONE, J.; ANDRADE, P. R.; BAUMGARTEN, L.; POLASKY, S. Expanding the soy moratorium to Brazil's Cerrado. **Science advances**, v. 5, n. 7, p. 7336, 2019.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.; MURPHY, A. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

TOMBESI, S.; FRIONI, T.; SABBATINI, P.; PONI, S.; PALLIOTTI, A. *Ascophyllum nodosum* extract improves leaf thermoregulation by reducing stomatal sensitivity to VPD in *Carex schmidtii* Meinsh to alternating flooding-drought conditions in the Momoge wetland, northeast China. **Aquatic Botany**, v.153, p.33–39, 2019.

## **CAPÍTULO 1- *Chlorella* sp.: uma estratégia bioestimulante para a produção de mudas de cedro rosa sob estresse hídrico.**

### **RESUMO**

As mudanças climáticas intensificam o déficit hídrico e comprometem a produção de mudas florestais voltadas à restauração ecológica. Neste contexto, bioinsumos como a microalga *Chlorella* sp. têm se destacado como alternativa sustentável ao uso de fertilizantes químicos. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito de doses crescentes de *Chlorella* sp. (0; 2,5; 5; 7,5 mL planta<sup>-1</sup>) em mudas de *C. fissilis* . cultivadas sob duas disponibilidades hídricas (40% e 70% da capacidade de retenção de água). O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados, em esquema fatorial 4×2. Foram avaliadas variáveis morfológicas, fisiológicas e anatômicas em três períodos: antes do estresse (T0), durante o estresse hídrico (F0) e após a reidratação (REC). Os resultados demonstraram que a dose de 5 mL planta<sup>-1</sup> promoveu os maiores valores de taxa fotossintética (25 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), eficiência no uso da água (3,0 μmol CO<sub>2</sub> mmol<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O) e índice de qualidade de Dickson, mesmo sob déficit hídrico. Além disso, houve incremento significativo na massa seca total e na plasticidade fenotípica. Conclui-se que a aplicação de *Chlorella* sp. melhora a resiliência e o desempenho fisiológico de mudas de *C. fissilis*, configurando-se como estratégia eficiente para a produção de mudas em viveiros sob condições climáticas adversas.

**Palavras chaves:** Espécies nativas; Déficit hídrico; Mudas florestais; Silvicultura; fitoremediadoras

### **ABSTRACT**

Climate change intensifies water deficits and compromises the production of forest seedlings aimed at ecological restoration. In this context, bioinputs such as the microalga *Chlorella* sp. have emerged as a sustainable alternative to chemical fertilizers. This study aimed to evaluate the effect of increasing doses of *Chlorella* sp. (0, 2.5, 5.0, and 7.5 mL plant<sup>-1</sup>) on *Cedrela fissilis* seedlings grown under two water availability conditions (40% and 70% of water retention capacity). The experiment was conducted in a randomized block design, arranged in a 4×2 factorial scheme. Morphological, physiological, and anatomical variables were assessed at three time points: before stress (T0), during water

deficit (F0), and after rehydration (REC). The results showed that the 5 mL plant<sup>-1</sup> dose promoted the highest values of photosynthetic rate (25  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), water use efficiency (3.0  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ ), and Dickson's quality index, even under water deficit. In addition, there was a significant increase in total dry mass and phenotypic plasticity. It is concluded that the application of *Chlorella* sp. enhances the resilience and physiological performance of *Cedrela fissilis* seedlings, representing an efficient strategy for seedling production in nurseries under adverse climatic conditions.

**Keywords:** Native species; Water deficit; Forest seedlings; Silviculture; Phytoremediation.

## INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas representam uma das maiores ameaças ambientais da atualidade, causando impactos devastadores nos ecossistemas em todo o mundo. O aumento das temperaturas globais, as alterações nos padrões de precipitações e os eventos climáticos extremos, tem desencadeado uma série de problemas ambientais, como desmatamento, desertificação e degradação dos solos (NATIONS UNITED, 2018).

O desenvolvimento sustentável emerge como um imperativo global, reconhecendo a interdependência entre o bem-estar humano, a prosperidade econômica e a preservação ambiental. Neste contexto, a agenda 2030 para o desenvolvimento sustentável foi estabelecida como um marco significativo, delineando uma série de metas e objetivos.

Dentro dessa estrutura abrangente, o objetivo de desenvolvimento sustentável número 15, assume um papel crucial, focalizado na proteção, restauração e promoção do uso sustentável dos ecossistemas terrestre e gerir de forma sustentável as florestas, combatendo a desertificação, detendo e revertendo a degradação da terra e a perda da biodiversidade (NATIONS UNITED, 2015).

Diante desse cenário, a produção de mudas de espécie nativas surge como uma estratégia fundamental na mitigação desses problemas ambientais e na promoção da resiliência dos ecossistemas (QUIAN et al., 2024)

Entre as espécies nativas do Brasil, o cedro (*Cedrella fissilis*Vell.) se destaca como uma planta amplamente difundida por todo o continente americano, sendo valorizada tanto no âmbito comercial, devido ao seu potencial na indústria madeireira e oleífero

(ZACHARIAS et al., 2020; RODRIGUES et al., 2020), quanto no ecológico, possuindo habilidades fitoremediadoras de solos contaminados com metais pesados (COVRE et al., 2020).

Além de seu valor ecológico e econômico, *Cedrela fissilis* possui particular importância para a conservação, pois está classificada como espécie vulnerável (VU) à extinção na Lista Vermelha do Flora e Funga do Brasil (2025), resultado da intensa exploração madeireira e da perda de habitat natural. Quanto à sua ecologia sucessional, essa espécie apresenta variações conforme o ambiente e a literatura científica: é considerada secundária inicial, secundária tardia, clímax ou ainda clímax exigente de luz, sendo capaz de ocorrer tanto em florestas primárias quanto em clareiras e ambientes secundários. Essa plasticidade ecológica reforça sua adequação para programas de reflorestamento e recuperação de áreas degradadas, especialmente diante de um cenário de mudanças climáticas e degradação ambiental acelerada. (CARVALHO, 2003)

No entanto, é importante destacar que a produção e a implantação de mudas no campo também podem enfrentar dificuldades relacionadas com as alterações na frequência das precipitações que afetam o crescimento e desenvolvimento das espécies arbóreas. É essencial destacar os potenciais impactos adversos associados ao uso de produtos agroquímicos, como fertilizantes, na produção e implantação de mudas no campo. Esses produtos podem causar efeitos negativos significativos no meio ambiente, como a contaminação do solo e da água, a redução da biodiversidade microbiana e a eutrofização de corpos d'água. Esses impactos podem comprometer a sustentabilidade dos ecossistemas naturais e agrícolas, destacando a necessidade de práticas agrícolas sustentáveis e o manejo cuidadoso dos recursos naturais (MARENGO e SOUZA JUNIOR, 2018).

Dentro deste contexto, a busca por métodos para produzir mudas resistentes a deficiência hídrica e isentas de agroquímicos, se torna uma prioridade, no enfrentamento dos desafios atuais, para garantir sucesso nos programas de reflorestamento, restauração de ecossistemas e conservação da biodiversidade.

Com o objetivo de fomentar a propagação e facilitar o crescimento e desenvolvimento de espécies florestais, os biofertilizantes surgem como uma prática promissora na produção de mudas (AMBROSIO et al., 2017). Destacamos a microalga *Chlorella* sp. que tem se sobressaído ao contribuir para a nutrição das plantas, bem como beneficiando para a tolerância e resiliência diante a vários estresses ambientais (LIMA et

al., 2020; TOMBESI et al., 2021). Entretanto, não há informações disponíveis na literatura acerca da dose adequada na produção de mudas de *C. fissilis*.

Conforme exposto, postula-se que a aplicação de *Chlorella* sp. como biofertilizante em mudas de *Cedrela fissilis* potencializa o desempenho fisiológico e o crescimento vegetal ao atuar como suplemento nutricional, estimulando o metabolismo fotossintético, favorecendo o acúmulo de biomassa e incrementando a resiliência ao déficit hídrico, por meio da otimização da eficiência no uso da água e da preservação da funcionalidade estomática durante e após períodos de restrição hídrica.

Diante da importância de estabelecer estratégias de manejo para a produção de mudas e a necessidade de robustez de informações sobre essa espécie florestal, objetivou-se com esse estudo avaliar os efeitos de doses crescentes de *Chlorella* sp. no crescimento e resiliência de mudas de *C. fissilis* em diferentes níveis de disponibilidade hídrica.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Os frutos maduros de *C. fissilis* foram coletados aleatoriamente de matrizes em área remanescente de Cerrado (Autorização de Acesso e de Remessa de Amostra de Componente do Patrimônio Genético nº 010220/2015-1 – CNPq/CGEN/MMA).

A semeadura foi realizada em tubetes de 280 cm<sup>3</sup> preenchidos com solo+ areia +substrato comercial Bioplant<sup>®</sup> (3:1:1) constituído de torta de filtro, casca de pinus, fibra de coco, casca de arroz, turfa de sphagnum, gesso agrícola e calcário, mantendo o substrato sempre com 70% da capacidade de retenção de água.

O transplântio das mudas para vasos com capacidade de 7 dm<sup>-3</sup> foi realizado quando as mudas atingiram altura média de 10 cm, que ocorreu aos 65 dias após a semeadura. Os vasos foram preenchidos com Oxisols correspondente ao Latossolo Vermelho Distroférico (SANTOS et al., 2018) de textura argilosa com características químicas: pH em água = 5,05; P = 0,02 mg dm<sup>3</sup>; Ca, Mg, K, Al, H+Al, SB e CTC com 0,69; 0,38; 0,11; 0,086; 6,57; 1,17 e 7,74 cmol<sub>c</sub> dm<sup>3</sup>, respectivamente, e saturação por base = 15,1%. Os vasos foram alocados em viveiro tipo telado agrícola com cobertura superior e lateral com tela de nylon de coloração preta com 50% de sombreamento e proteção superior de cobertura plástica de 150 µm.



O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, e os tratamentos foram arrançados em esquema fatorial 4 x 2 com quatro repetições, e a unidade experimental foi constituída por um vaso com duas plantas cada, testando quatro doses de *Chlorella* sp.: 0; 2,5; 5,0; 7,5 mL/planta aplicada de 7 em 7 dias durante 1 mês sendo feitas 4 aplicações. Os vasos foram vedados na parte inferior com fita adesiva e receberam irrigação de forma a manter 40 e 70% da capacidade de retenção de água segundo Souza et al. (2000), onde a CRA de 100% foi determinada por meio do conteúdo de água retida após o escoamento e as CRA de 40 e 70%, obtidas por meio de regra de três simples em função do peso.

Em seguida, todos os vasos foram pesados em balança de precisão (0,001 g) e a irrigação individualizada deles foi realizada a cada dois dias, com água em quantidade suficiente para atingir o peso pré-estabelecido para cada tratamento. Os vasos foram mantidos sob telado plástico para evitar contato com a água de chuva.

As mudas receberam quatro aplicações das respectivas doses de *Chlorella* sp. ao longo de 30 dias, com intervalos de sete dias entre cada aplicação. Após a última aplicação, foi mantido um intervalo de 15 dias antes da realização da primeira avaliação (T<sub>0</sub>), permitindo a absorção e manifestação inicial dos efeitos fisiológicos do bioestimulante. Somente então foram iniciados os tratamentos com as duas disponibilidades hídricas (40% e 70% da capacidade de retenção de água – CRA).

As avaliações foram realizadas em três períodos. O primeiro, T<sub>0</sub> (tempo zero), correspondeu ao início do experimento, imediatamente antes da suspensão da irrigação. O segundo, F<sub>0</sub>, foi definido quando as mudas submetidas à restrição hídrica (40% da capacidade de retenção de água, CRA) apresentaram valores de fotossíntese próximos de zero; nesse ponto, procedeu-se à retomada da irrigação no mesmo nível utilizado para as plantas-controle, isto é, 70% da CRA. O terceiro período, REC, correspondeu à avaliação 100 dias após a uniformização da irrigação a 70% da CRA para todas as mudas, mantendo-se as mudas previamente estressadas sob irrigação contínua nas mesmas condições do controle.

Foram avaliadas as características de crescimento da planta como: altura de plantas realizada com régua graduada, utilizando como padrão a distância entre o solo e a inserção da última folha. O diâmetro do coleto foi medido com paquímetro digital inserido 1,0 cm acima do solo, e o número de folhas foi contado manualmente. Em todas as avaliações foram retiradas as mudas dos vasos, lavadas para limpeza do excesso de

substratos, e separados em folha, caule e sistema radicular. O comprimento de raiz foi medido com régua graduada. Para avaliar a massa seca, a parte aérea (folhas e caules) e as raízes foram acondicionadas em sacos de papel Kraft, e submetidas à secagem em estufa a  $60 \pm 2$  °C por 72 horas, e pesadas em balança de precisão milesimal. A área foliar foi determinada em integrador de área (LI-COR, 3100 C – Area Meter).

A qualidade das mudas foi avaliada com base no índice de qualidade de Dickson (IQD) calculado conforme descrito por DICKSON et al. (1960).

O índice de clorofila (SPAD) foi medido usando clorofilômetro portátil Falker CFL 1030 e a clorofila-a e clorofila-b usando um Medidor Digital de Teor de Clorofila clorofiLOG CFL2060 em folhas totalmente expandidas localizadas no meio terço da planta, entre as 8 e 10h.

A fluorescência inicial ( $F_0$ ) e máxima ( $F_m$ ) da clorofila-a e a eficiência quântica potencial fotoquímica do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) foi medida utilizando do fluorômetro portátil OS p 30 (OPTI-SCIENCES Chlorophyll Fluorometer, Hudson, USA). Para isso, as mesmas folhas que foi avaliado o índice de clorofila, foram submetidas a condição de escuro, com cliques foliares durante 30 minutos. A partir dos dados obtidos foi calculada a eficiência de conversão de energia absorvida ( $F_v/F_0$ ) e rendimento máximo não fotoquímico ( $F_0/F_v$ )

As trocas gasosas baseadas na taxa de assimilação de  $CO_2$  (fotossíntese) – A, condutância estomática – gs, concentração intercelular de  $CO_2$  –  $C_i$  e transpiração – E foram avaliados em duas folhas totalmente expandidas localizadas no terço médio usando analisador de fotossíntese portátil LCIPro-SD (IRGA, Modelo ACD BioScientific Ltda.); posteriormente, a eficiência de carboxilação da Rubisco ( $A/C_i$ ) e eficiência do uso da água – WUE ( $A/E$ ) foram calculados. As avaliações foram feitas entre 8 e 10 horas, considerando a radiação fotossinteticamente ativa  $> 850 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ .

O Índice de Plasticidade Fenotípica (IPF) foi determinado a partir da razão entre a diferença absoluta do valor máximo e do valor mínimo observados para cada variável fisiológica ou de crescimento, e o valor máximo registrado, conforme metodologia adaptada de Valladares et al. (2006):

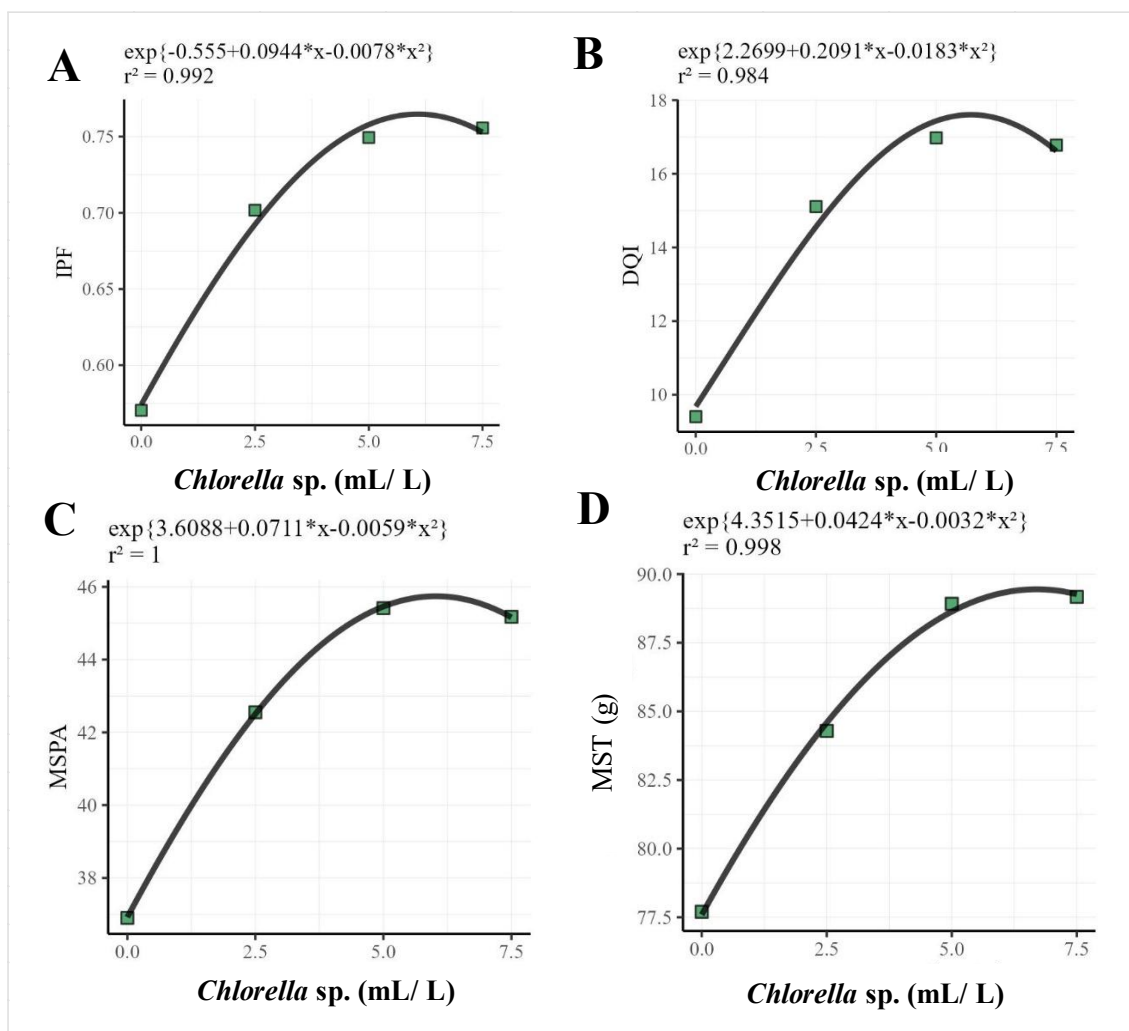
Para cada período de avaliação, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e quando significativos pelo teste F ( $p \leq 0,05$ ), as médias das doses de *Chlorella* sp. foram submetidas à análise de regressão para testar os modelos linear ou quadrático

( $p \leq 0,05$ ), e a interação dos fatores foram comparadas por regressão para *Chlorella* sp. e teste F para capacidade de retenção de água ( $p \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS

### AVALIAÇÃO INICIAL: T0

A aplicação de *Chlorella* sp. influenciou significativamente o desenvolvimento e a produção das plantas, promovendo aumentos expressivos no Índice de Plasticidade Fenotípica (IPF), no Índice de Qualidade de Dickson (DQI), na Massa Seca da Parte Aérea (MSPA) e na Massa Seca Total (MST) (Figura 1).



**Figura -0-1** - Índice de Plasticidade Fenotípica (IPF), Índice qualidade de Dickson (DQI), a Massa Seca da Parte Aérea (MSPA) e a Massa Seca Total (MST) em mudas de *C. fissilis* em função de doses de *Chlorella* sp.

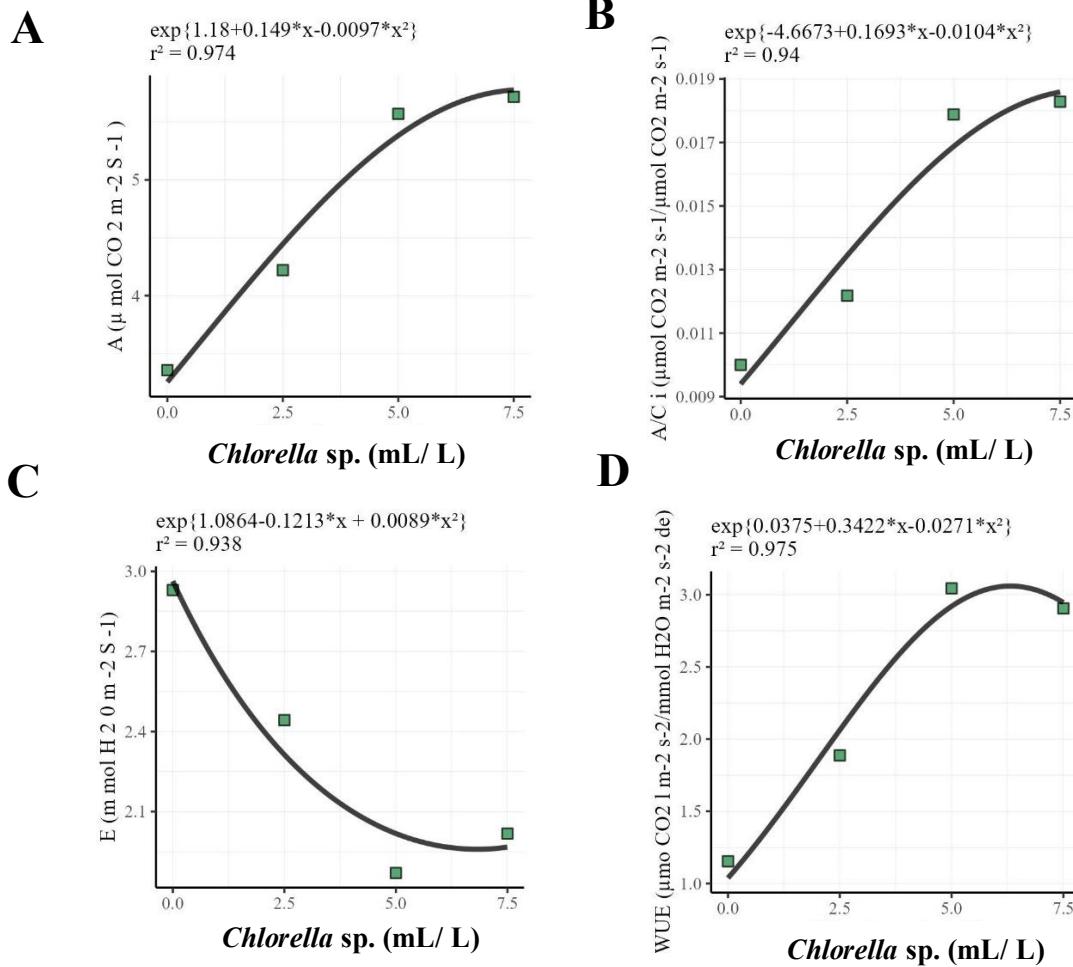
O IPF apresentou comportamento quadrático em função das doses, com ponto de máximo estimado na concentração de 6,03 mL/L, atingindo valor de 0,75 (Figura 1A). Em comparação ao tratamento controle (0,55), houve incremento de aproximadamente 36%, indicando maior capacidade de ajuste morfológico das plantas às condições de crescimento.

O DQI também seguiu tendência quadrática, alcançando valor máximo de 17,9 na dose de 5,71 mL/L (Figura 1B). Esse valor representa aumento de cerca de 78% em relação ao controle (10,06), evidenciando melhoria significativa na robustez e no equilíbrio morfofisiológico das mudas.

Para a MSPA, o ponto máximo foi observado na dose de 6,02 mL/L, com valor estimado de 45,9 g (Figura 1C), correspondendo a um ganho de 21% quando comparado ao controle (38 g). A MST atingiu o maior valor (89,5 g) na dose de 6,63 mL/L (Figura 1D), superando o controle (77,4 g) em aproximadamente 16%.

De forma geral, observa-se que as respostas máximas ocorreram em concentrações próximas a 6 mL/L, indicando que essa faixa é potencialmente a mais eficiente para promover desenvolvimento estrutural e acúmulo de biomassa em mudas de *Cedrela fissilis* Vell.

A aplicação de *Chlorella* sp. influenciou significativamente a atividade fotossintética e a eficiência do uso da água (Figura 2), com respostas quadráticas para todas as variáveis no T0: houve aumento de A, A/Ci e WUE e redução de E.



**Figura- 0-2-** Taxa de fotossíntese líquida (A), eficiência carboxilativa (A/Ci), Transpiração(E) e eficiência do uso da água (WUE) em mudas de *C. fissilis* . em função de doses crescentes de *Chlorella sp*, avaliadas no início do Experimento (T0)

A taxa de fotossíntese líquida (A) apresentou comportamento quadrático em função das doses, com ponto de máximo estimado em 7,680 mL/L, atingindo 5,767  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (Figura 2A). Em comparação ao valor previsto para o controle (3,254  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), houve incremento de 77,2%, evidenciando maior assimilação de  $\text{CO}_2$  na presença de *Chlorella sp*.

A eficiência carboxilativa (A/Ci) também seguiu tendência quadrática, alcançando o valor máximo de 0,01872 na dose de 8,139 mL/L (Figura 2B). Esse desempenho representa aumento de 99,2% em relação ao controle (0,009398). Observa-se que o ótimo estimado situa-se levemente acima da faixa testada (até 7,5 mL/L).

Para a taxa de transpiração (E), a resposta foi convexa (mínimo), ocorrendo o menor valor em 6,815 mL/L, com 1,960  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (Figura 2C). Em relação ao

controle (2,964 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), isso representa redução de 33,9%, indicando menor perda de água pelas folhas.

A eficiência do uso da água (WUE) foi maximizada na dose de 6,314 mL/L, atingindo 3,058 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> / mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (Figura 2D). Comparado ao controle (1,038), o ganho foi de 194,5%, refletindo maior conversão de água em assimilação de carbono.

De forma geral, os ótimos concentraram-se entre ~6 e 7,7 mL/L, faixa em que se maximizam A e WUE e se minimiza E, indicando que *Chlorella* sp. potencializa a fotossíntese e a economia hídrica já nas doses próximas de 6 mL/L..

### **AVALIAÇÃO: FOTOSSÍNTESE 0 (F0)**

Este estudo foi conduzido considerando o ponto crítico em que algumas plantas atingiram fotossíntese zero (F0). Neste contexto, a análise de variância (ANOVA) revelou que a aplicação de *Chlorella* sp. e a concentração de água no solo tiveram impactos significativos em diversas variáveis fisiológicas e de crescimento.

Tabela 1-Resultados da análise de deviance para o avaliação fotossíntese zero" (\*\*, significativo a 5% pelo teste F) seguidos do coeficiente de variação (CV) e do valor p do teste de Normalidade (pSW).

Variável	Estatística F			CV (%)	pSW
	<i>Chlorella</i> (C)	Watter (W)	C versus W		
C i (μ mol CO 2 Mol -1)	9,069**	0,62	0,223	29,06%	0,997
E (m mol H 2 0 m -2 S -1	10,25**	38,153**	2,678	27,30%	0,492
g s (mol H 2 0 m -2 S -1 )	19,44**	53,967**	0,298	23,37%	0,748
A (μ mol CO 2 m -2 S -1 )	11,305**	45,435**	0,936	22,86%	0,133
A/C i (μmol CO 2 m -2 s -1 / μmol CO 2 m -2 s -1 )	5,34**	17,47**	0,098	46,21%	0,009
WUE (μmo CO 2 l m -2 s -2 / mmol H 2 O m -2 s -2 de)	12,294**	1,934	2,01	22,74%	0,427
Stomatal limitation	5,136**	0,327	0,312	27,24%	0,997
Stem diameter (mm)	9,089**	0,342	2,276	9,27%	0,119
chlorophyll index (SPAD)	3,621**	9,295**	5,457**	21,51%	0,385
Plant height (cm)	20,746**	10,399**	0,184	9,31%	0,294
Root Lenght (cm)	7,873**	0,01	1,11	12,54%	0,875
chlorophyll a	4,978**	3,074	1,452	18,52%	0,022
chlorophyll B	11,482**	0,834	2,661	18,00%	0,933
Leaf area (cm <sup>2</sup> )	75,96**	380,047**	4,308**	9,15%	0,473

<b>MSPA</b>	29,452**	3,149	1,772	7,04%	0,508
<b>Root dry matter(g)</b>	18,153**	1,505	0,856	13,20%	0,309
<b>F0</b>	0,654	1,638	1,739	20,74%	0,872
<b>FM</b>	3,263**	0,001	0,77	18,98%	0,667
<b>FV/M</b>	3,659**	2,155	2,475	9,79%	0,296
<b>FV</b>	4,065**	0,234	1,505	22,90%	0,412
<b>Fv/Fm</b>	2,877	2,03	2,657	10,36%	0,693
<b>FV/Fo</b>	1,665	0,907	2,628	27,08%	0,457
<b>Fo/Fm</b>	3,844**	2,929	2,24	20,13%	0,693
<b>Total dry matter (g)</b>	38,472**	3,651	0,506	7,54%	0,638
<b>DQI</b>	19,426**	0,534	0,722	12,71%	0,485
<b>IPF</b>	15,451**	0,195	2,05	17,38%	0,505

No ponto crítico (**F0**), a aplicação de *Chlorella* sp. apresentou efeito significativo sobre a concentração interna de CO<sub>2</sub> (C<sub>i</sub>), taxa de transpiração (E), condutância estomática (g<sub>s</sub>), taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A), razão A/C<sub>i</sub>, eficiência do uso da água (WUE), limitação estomática, clorofila a, clorofila b, diâmetro do coleto, comprimento de raízes, massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de raízes, matéria seca total, índice de qualidade de Dickson (DQI) e índice de plasticidade fenotípica (IPF).

A disponibilidade hídrica no solo apresentou efeito significativo sobre a taxa de transpiração (E), condutância estomática (g<sub>s</sub>), taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A), razão A/C<sub>i</sub>, índice de clorofila (SPAD), altura das plantas e área foliar. A interação entre *Chlorella* sp. e disponibilidade hídrica foi significativa para o índice SPAD e para a área foliar.

A fotossíntese líquida (A) apresentou máximo em 5,52 mL L<sup>-1</sup>, com 5,88 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, incremento de 216,4% frente ao controle (1,86 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) (Fig. 3A).

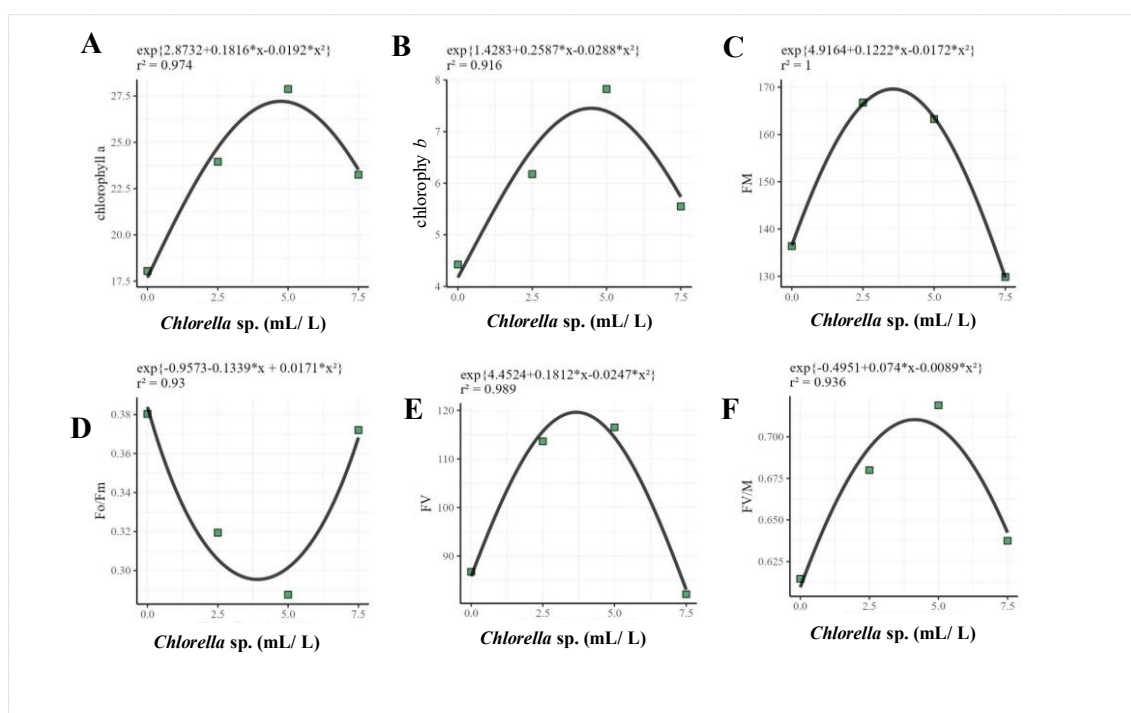
A transpiração (E) apresentou mínimo estimado em 7,5 mL L<sup>-1</sup>, com 0,871 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, o que representa redução de 28,8% em relação ao controle (1,222 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) (Fig. 3B). Reduções já eram perceptíveis a partir de 2,5 mL L<sup>-1</sup> (1,196; -2,2%) e tornaram-se mais pronunciadas em 5,0 mL L<sup>-1</sup> (1,068; -12,6%).

A concentração interna de CO<sub>2</sub> (C<sub>i</sub>) exibiu mínimo em 6,76 mL L<sup>-1</sup>, com 157,47 μmol CO<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup>, redução de 45,6% em relação ao controle (289,34 μmol CO<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup>) (Fig. 3C). A limitação estomática (L<sub>s</sub>) alcançou máximo em 6,22 mL L<sup>-1</sup>, com 0,636, aumento de 94,6% frente ao controle (0,327) (Fig. 3D). A condutância estomática (g<sub>s</sub>) teve máximo em 7,21 mL L<sup>-1</sup>, atingindo 0,0606 mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, 349,4% sobre o controle (0,0135 mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) (Fig. 3E).

A razão A/Ci apresentou máximo em 6,35 mL L<sup>-1</sup>, com 0,0398, incremento de 469,7% frente ao controle (0,0070) (Fig. 3F).

A eficiência do uso da água (WUE) foi maximizada em 6,54 mL L<sup>-1</sup>, com 6,074 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> / mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, aumento de 195,0% em relação ao controle (2,059) (Fig. 3G).

A aplicação de *Chlorella* sp. influenciou significativamente os pigmentos fotossintéticos e parâmetros de fluorescência da clorofila (Figura 4), com ajuste das respostas a modelos quadráticos.



**Figura-0-3-** Clorofila a, Clorofila b, Fluorescência Máxima (FM), Fluorescência variável (FV), eficiência quântica máxima do PSII, em mudas de *C. fissilis* em condição de fotossíntese zero em função de doses crescentes de *Chlorella* sp., avaliadas no período F0.

A clorofila a apresentou máximo em 4,73 mL L<sup>-1</sup>, com 27,18, incremento de 53,6% em relação ao controle (17,69) (Fig. 4A). A clorofila b apresentou máximo em 4,49 mL L<sup>-1</sup>, com 7,46, aumento de 78,8% frente ao controle (4,17) (Fig. 4B). A Fm atingiu máximo em 3,55 mL L<sup>-1</sup>, com 169,60, +24,2% em relação ao controle (136,51) (Fig. 4C).

A razão Fo/Fm exibiu mínimo em 3,92 mL L<sup>-1</sup>, com 0,295, representando redução de 23,1% face ao controle (0,384), resultado desejável por indicar menor limitação basal do PSII (Fig. 4D).



A Fv apresentou máximo em 3,67 mL L<sup>-1</sup>, alcançando 119,67, +39,4% comparado ao controle (85,83) (Fig. 4E). A Fv/Fm foi maximizada em 4,16 mL L<sup>-1</sup>, com 0,711, valor 16,6% superior ao controle (0,610) (Fig. 4F).

A aplicação de *Chlorella* sp. influenciou significativamente variáveis de crescimento, biomassa e morfologia foliar (Figura 5), com ajuste a modelos quadráticos para todas as variáveis.

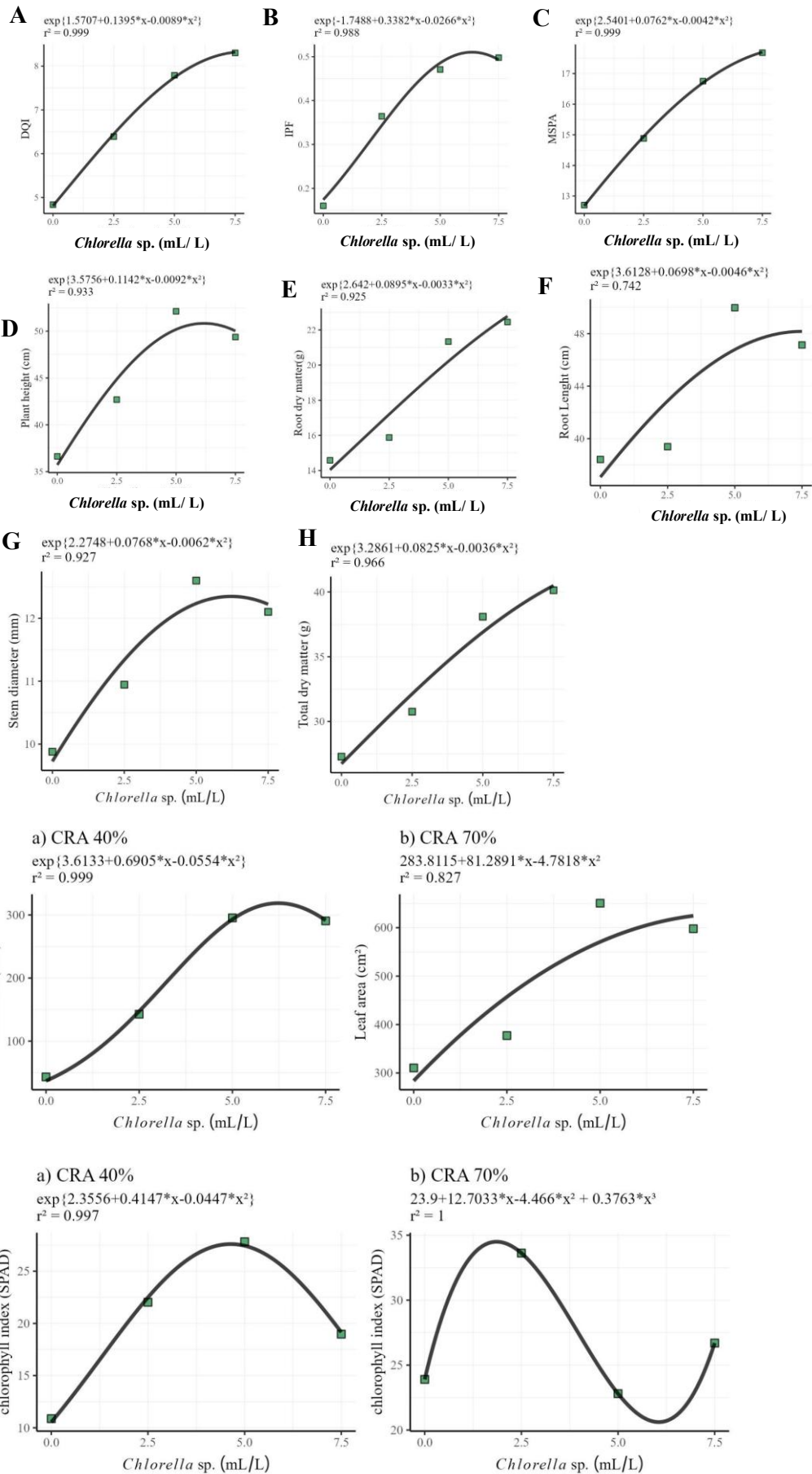
O índice de qualidade de Dickson (DQI) apresentou ponto máximo estimado na dose de 7,83 mL L<sup>-1</sup>, atingindo 8,29 (Figura 5A), o que representa incremento de 286,2% em relação ao controle (1,34). O índice de plasticidade fenotípica (IPF) apresentou valor máximo na dose de 6,41 mL L<sup>-1</sup>, com 3,58 (Figura 5B), correspondendo a um aumento de 190,9% em comparação ao controle (1,23).

A massa seca da parte aérea (MSPA) apresentou valor máximo estimado de 13,23 g na dose de 9,57 mL L<sup>-1</sup> – valor extrapolado para fora da faixa experimental testada – (Figura 5C), representando aumento de 152,7% em relação ao controle (5,23 g). A altura de planta atingiu seu ponto máximo em 5,81 mL L<sup>-1</sup>, com 151,6 cm (Figura 5D), incremento de 38,2% sobre o controle (109,6 cm).

A massa seca de raízes apresentou tendência de crescimento em todo o intervalo avaliado, com maior valor estimado de 5,97 g na dose de 7,5 mL L<sup>-1</sup> (Figura 5E), representando acréscimo de 91,3% em relação ao controle (3,12 g). O comprimento de raízes foi maximizado na dose de 7,27 mL L<sup>-1</sup>, com 53,7 cm (Figura 5F), aumento de 62,3% em relação ao controle (33,1 cm).

O diâmetro do coleto apresentou ponto máximo na dose de 6,12 mL L<sup>-1</sup>, com 13,14 mm (Figura 5G), valor 46,9% superior ao controle (8,94 mm). A matéria seca total apresentou tendência crescente, atingindo 20,24 g na dose de 7,5 mL L<sup>-1</sup> (Figura 5H), o que corresponde a um aumento de 91,9% sobre o controle (10,54 g).

A área foliar respondeu de forma diferenciada de acordo com a capacidade de retenção de água (CRA). Sob CRA de 40%, o ponto máximo foi observado na dose de 6,27 mL L<sup>-1</sup>, com 320,7 cm<sup>2</sup> (Figura 5I-a), incremento de 186,5% em relação ao controle (111,9 cm<sup>2</sup>). Sob CRA de 70%, o valor máximo ocorreu na dose de 5,35 mL L<sup>-1</sup>, atingindo 466,8 cm<sup>2</sup> (Figura 5I-b), aumento de 83,7% em relação ao controle (254,2 cm<sup>2</sup>).



**Figura -0-4-** (A) Índice de Qualidade de Dickson (DQI), (B) Índice de Plasticidade Fenotípica (IPF), (C) Massa Seca da Parte Aérea (MSPA), (D) Altura de planta, (E) Massa seca de raízes, (F) Comprimento de raízes, (G) Diâmetro do coleto, (H) Matéria seca total, (I) Área foliar sob 40% (a) e 70% (b) da capacidade de retenção de água (CRA) e (J) Índice de clorofila (SPAD) sob 40% (a) e 70% (b) da CRA em mudas de *C. fissilis* . em função de doses crescentes de *Chlorella* sp., avaliadas no período F0.

O índice SPAD, sob CRA de 40%, apresentou ajuste quadrático, com ponto máximo na dose de 4,64 mL L<sup>-1</sup>, atingindo 27,59 (Figura 5J-a), valor 161,6% superior ao controle (10,54). Sob CRA de 70%, o modelo cúbico indicou máximo local na dose de 1,86 mL L<sup>-1</sup>, com 34,50 (Figura 5J-b), representando aumento de 44,3% sobre o controle (23,90). No mesmo ajuste, observou-se um mínimo local na dose de 6,05 mL L<sup>-1</sup>, com 20,62.

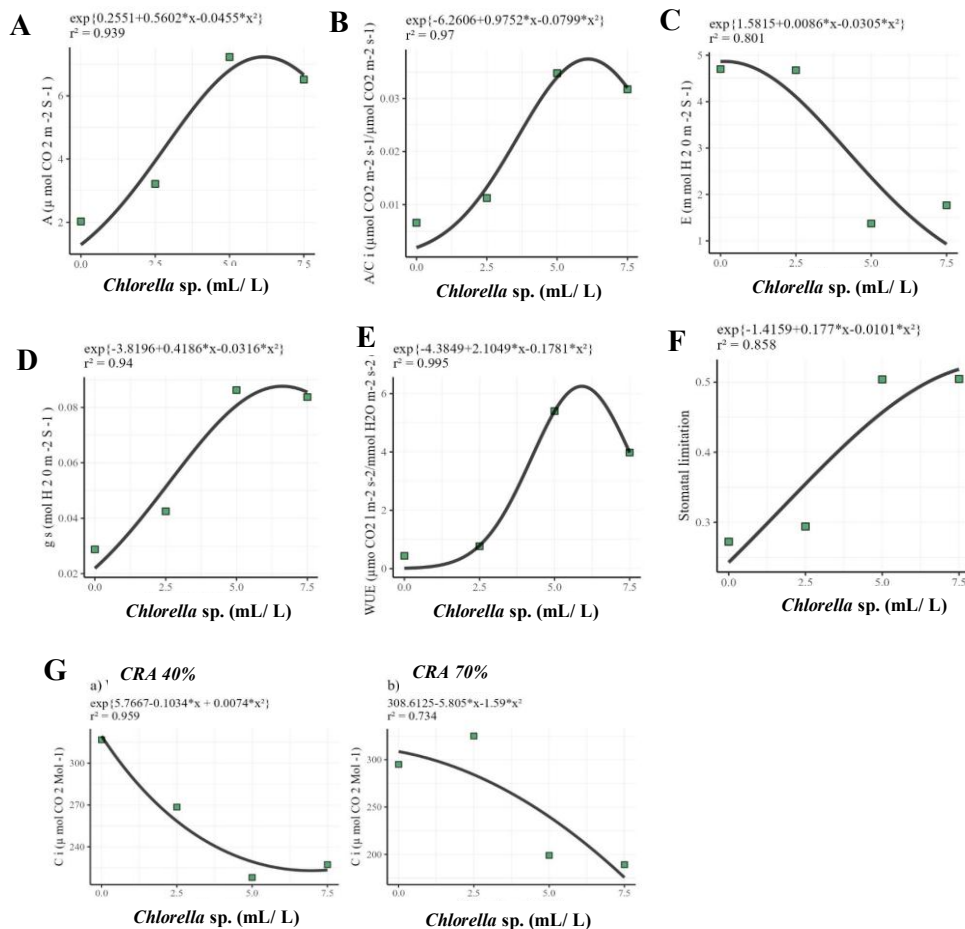
#### **AVALIAÇÃO: RECUPERAÇÃO (REC)**

A aplicação de *Chlorella* sp. apresentou efeito significativo sobre diversas variáveis fisiológicas e de crescimento. Entre os parâmetros relacionados às trocas gasosas, foram afetados a concentração interna de CO<sub>2</sub> (C<sub>i</sub>), a taxa de transpiração (E), a condutância estomática (g<sub>s</sub>), a taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A), a razão A/C<sub>i</sub>, a eficiência do uso da água (WUE) e a limitação estomática.

Em relação às características morfológicas e de biomassa, observou-se efeito significativo sobre o diâmetro do coleto, altura de plantas, comprimento de raízes, massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de raízes, matéria seca total (TDM), índice de qualidade de Dickson (DQI) e índice de plasticidade fenotípica (IPF).

Para as variáveis associadas à eficiência fotossintética, houve resposta significativa no índice de clorofila (SPAD), nos teores de clorofila a e clorofila b, bem como nos parâmetros de fluorescência da clorofila, incluindo fluorescência máxima (F<sub>m</sub>), fluorescência variável (F<sub>v</sub>), eficiência quântica máxima do PSII (F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>) e relação F<sub>o</sub>/F<sub>m</sub>. A disponibilidade hídrica isoladamente influenciou significativamente a taxa de transpiração, a condutância estomática e o teor de clorofila b.

A aplicação de *Chlorella* sp. promoveu alterações significativas em variáveis fisiológicas avaliadas aos 100 dias após o retorno das plantas às condições hídricas ideais (Figura 6).



**Figura -0-5-** (A) Taxa de fotossíntese líquida de CO<sub>2</sub> (A), (B) eficiência carboxilativa (A/Ci), (C) taxa de transpiração (E), (D) condutância estomática (g<sub>s</sub>), (E) eficiência do uso da água (WUE), (F) limitação estomática (Li) e (G) concentração interna de CO<sub>2</sub> (Ci) sob 40% (a) e 70% (b) da capacidade de retenção de água (CRA) em mudas de *C. fissilis* . em função de doses crescentes de *Chlorella* sp., avaliadas aos 100 dias após o retorno das plantas às condições hídricas ideais.

A taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A) ajustou-se a modelo exponencial quadrático, com ponto de máximo em 6,16 mL L<sup>-1</sup>, atingindo 7,24 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, o que representa +460,9% em relação ao controle (1,29 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>). A eficiência carboxilativa (A/Ci) seguiu a mesma tendência, apresentando máximo em 6,10 mL L<sup>-1</sup>, com 0,0374 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> / μmol CO<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup>, equivalente a +1.860,2% frente ao controle (0,0019).

Em contraste, a taxa de transpiração (E) decresceu com as doses, alcançando mínimo na maior dose avaliada (7,5 mL L<sup>-1</sup>), com 0,933 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, o que

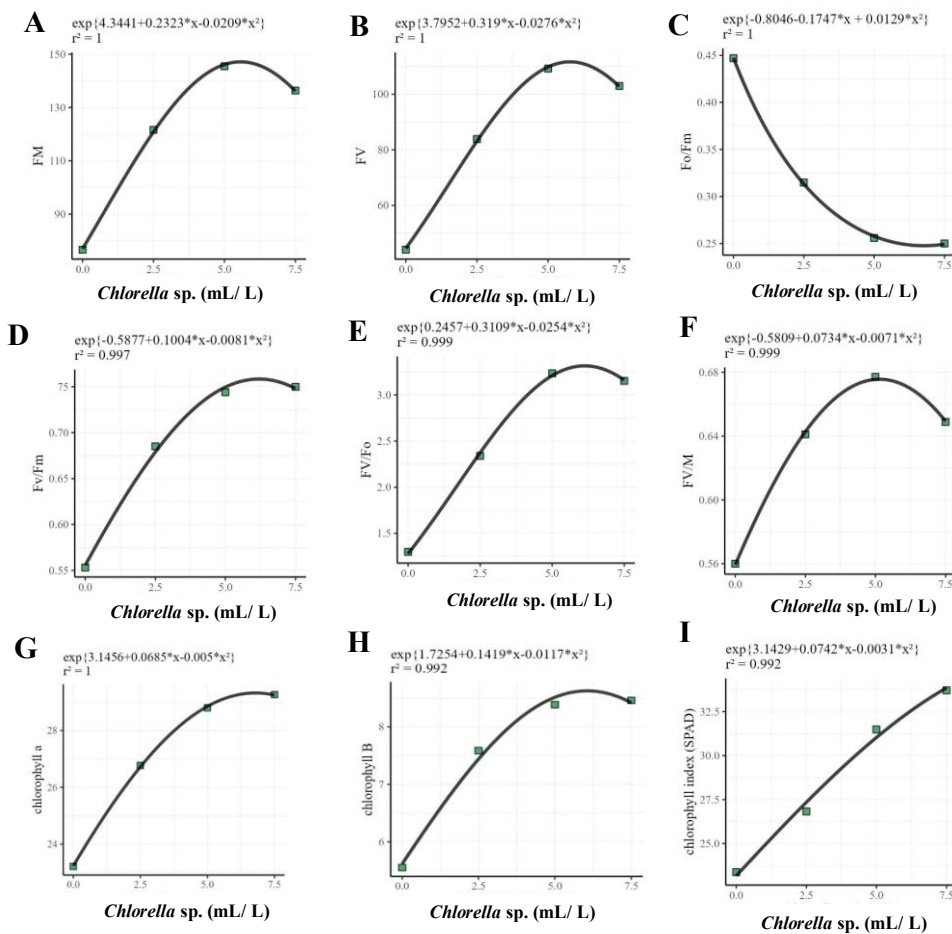
representa redução de 80,8% em relação ao controle ( $4,86 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). A condutância estomática ( $g_s$ ) aumentou até  $6,62 \text{ mL L}^{-1}$ , quando atingiu  $0,0877 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , valor +300,0% acima do controle ( $0,0219 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ).

A eficiência do uso da água (WUE) respondeu positivamente à aplicação, com máximo em  $5,91 \text{ mL L}^{-1}$  e  $6,261 \text{ } \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} / \text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , aumento de +50.133% em relação ao controle (0,0125). A limitação estomática (Li) exibiu crescimento ao longo do intervalo; o máximo teórico ocorre em  $8,76 \text{ mL L}^{-1}$  (fora da faixa), e o maior valor observado foi 0,519 na dose de  $7,5 \text{ mL L}^{-1}$ , +113,7% acima do controle (0,243).

A concentração interna de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ) variou com a CRA. Sob 40% da CRA, o ajuste exponencial indicou mínimo em  $6,99 \text{ mL L}^{-1}$ , com  $222,63 \text{ } \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ , -30,3% em relação ao controle ( $319,48 \text{ } \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ ). Sob 70% da CRA (modelo quadrático), não houve ponto crítico positivo; a resposta foi decrescente, com menor valor na dose de  $7,5 \text{ mL L}^{-1}$  ( $175,64 \text{ } \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ ), correspondendo a -43,1% frente ao controle ( $308,61 \text{ } \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ ).

Esses resultados evidenciam que cada variável responde de forma particular à aplicação de *Chlorella* sp., refletindo a existência de faixas ótimas específicas para maximizar os ganhos fisiológicos e fotossintéticos.

Com base nos modelos de regressão ajustados para as variáveis apresentadas na Figura 7, verificou-se que a aplicação de *Chlorella* sp. promoveu alterações significativas nos parâmetros de fluorescência da clorofila e nos teores de pigmentos fotossintéticos, evidenciando respostas dependentes da dose aplicada. A fluorescência máxima ( $F_m$ ) apresentou incremento progressivo até a dose estimada de  $5,56 \text{ mL L}^{-1}$ , atingindo 146,88 unidades; acima dessa concentração, observou-se tendência de declínio, sugerindo possível limitação fotoquímica em concentrações mais elevadas (Figura 7A). De forma similar, a fluorescência variável ( $F_v$ ) alcançou o ponto ótimo em  $5,78 \text{ mL L}^{-1}$ , registrando 111,83 unidades (Figura 7B), o que indica melhora no desempenho do fotossistema II (PSII) até essa concentração.



**Figura -0-6-** (A) Fluorescência máxima (Fm), (B) fluorescência variável (Fv), (C) relação  $F_0/F_m$ , (D) eficiência quântica máxima do PSII ( $F_v/F_m$ ), (E) razão  $F_v/F_0$ , (F)  $F_v/M$ , (G) clorofila a, (H) clorofila b e (I) índice de clorofila (SPAD) em mudas de *C. fissilis*. em função de doses crescentes de *Chlorella* sp. avaliadas aos 100 dias após o retorno das plantas às condições hídricas ideais.

O parâmetro  $F_0/F_m$ , indicador do estado basal do PSII e frequentemente associado a danos ou ajustes estruturais nos complexos de antena, apresentou comportamento inverso ao das variáveis anteriores, com mínimo estimado em  $6,77 \text{ mL L}^{-1}$  e valor de 0,248 (Figura 7C), evidenciando redução de perdas de energia não fotoquímicas em concentrações próximas a esse ponto. A eficiência quântica máxima do PSII ( $F_v/F_m$ ) apresentou valor máximo de 0,758 na dose de  $6,20 \text{ mL L}^{-1}$  (Figura 7D), aproximando-se de valores considerados ótimos para espécies saudáveis, o que reforça a contribuição positiva de *Chlorella* sp. para a integridade funcional dos complexos de reação.

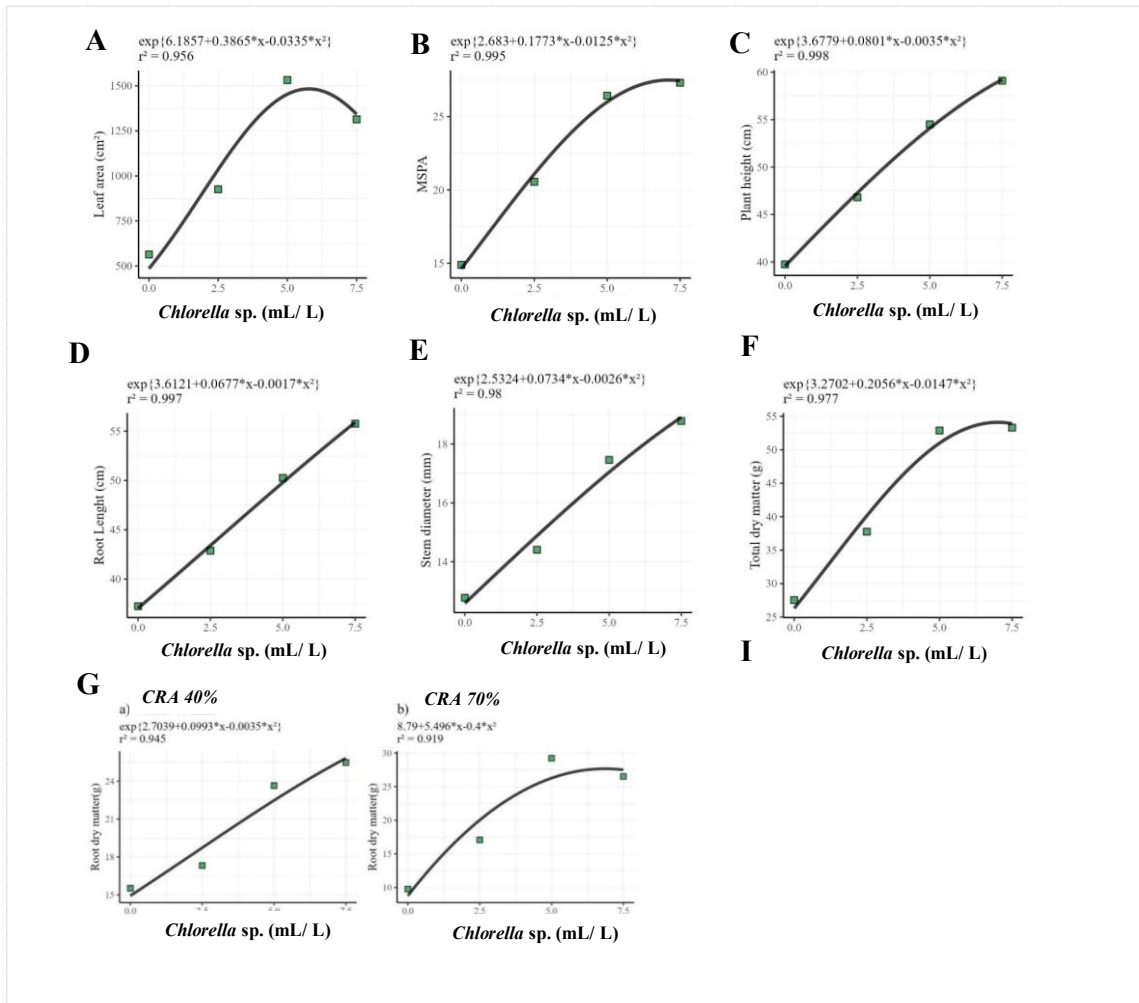
No caso da razão  $F_v/F_0$ , associada à eficiência potencial de transporte de elétrons, o ponto de máxima resposta foi observado em  $6,12 \text{ mL L}^{-1}$ , com 3,310 unidades (Figura

7E). Já o parâmetro  $F_v/M$  apresentou comportamento semelhante, atingindo 0,676 na dose de  $5,17 \text{ mL L}^{-1}$  (Figura 7F), sugerindo que as doses moderadas de *Chlorella* sp. otimizam a capacidade de conversão de energia no PSII.

Quanto aos pigmentos, a concentração de clorofila a aumentou até  $6,85 \text{ mL L}^{-1}$ , atingindo 29,38 unidades (Figura 7G), enquanto a clorofila b apresentou máximo de 8,63 unidades na dose de  $6,06 \text{ mL L}^{-1}$  (Figura 7H). Por fim, o índice de clorofila (SPAD) apresentou tendência linear crescente ao longo da faixa testada, não atingindo ponto de saturação dentro do intervalo experimental; na dose máxima avaliada ( $7,5 \text{ mL L}^{-1}$ ), registrou-se 33,95 unidades (Figura 7I), evidenciando acúmulo contínuo de pigmentos.

Com base nos dados da Figura 8, a aplicação de *Chlorella* sp. promoveu incrementos significativos em variáveis morfológicas e produtivas das mudas de *C. fissilis* durante a fase de recuperação, aos 100 dias após o restabelecimento das condições hídricas ideais.

A área foliar apresentou comportamento quadrático, com ponto máximo estimado em  $5,77 \text{ mL L}^{-1}$ , atingindo aproximadamente  $1.481 \text{ cm}^2$  (Figura 8A). Em relação ao controle (cerca de  $486 \text{ cm}^2$ ), esse valor representa um incremento de aproximadamente 205%, evidenciando que doses moderadas otimizam a expansão foliar antes que efeitos de saturação limitem o crescimento.



**Figura -0-7-** (A) Área foliar; (B) Massa seca da parte aérea (MSPA); (C) Altura de planta; (D) Comprimento de raiz; (E) Diâmetro do caule; (F) Matéria seca total; (G) Massa seca de raízes sob 40% da capacidade de retenção de água (CRA); (H) Massa seca de raízes sob 70% da CRA, em mudas de *C. fissilis* . em função de doses crescentes de *Chlorella* sp., avaliadas 100 dias após o retorno às condições hídricas ideais

A massa seca da parte aérea (MSPA) também seguiu ajuste quadrático, com valor máximo de 27,43 g na dose de 7,09 mL L<sup>-1</sup> (Figura 8B), superando em cerca de 87,5% o tratamento controle (14,63 g). A altura de planta apresentou incremento contínuo, alcançando 59,25 cm na dose máxima testada (7,5 mL L<sup>-1</sup>) (Figura 8C), enquanto o comprimento radicular aumentou linearmente até atingir 55,94 cm na dose de 7,5 mL L<sup>-1</sup> (Figura 8D), representando crescimento de 51,0% em comparação ao controle (37,04 cm).

O diâmetro do caule apresentou comportamento quadrático, atingindo valor máximo estimado de 21,12 mm na dose de 14,12 mL L<sup>-1</sup> de *Chlorella* sp., o que representa



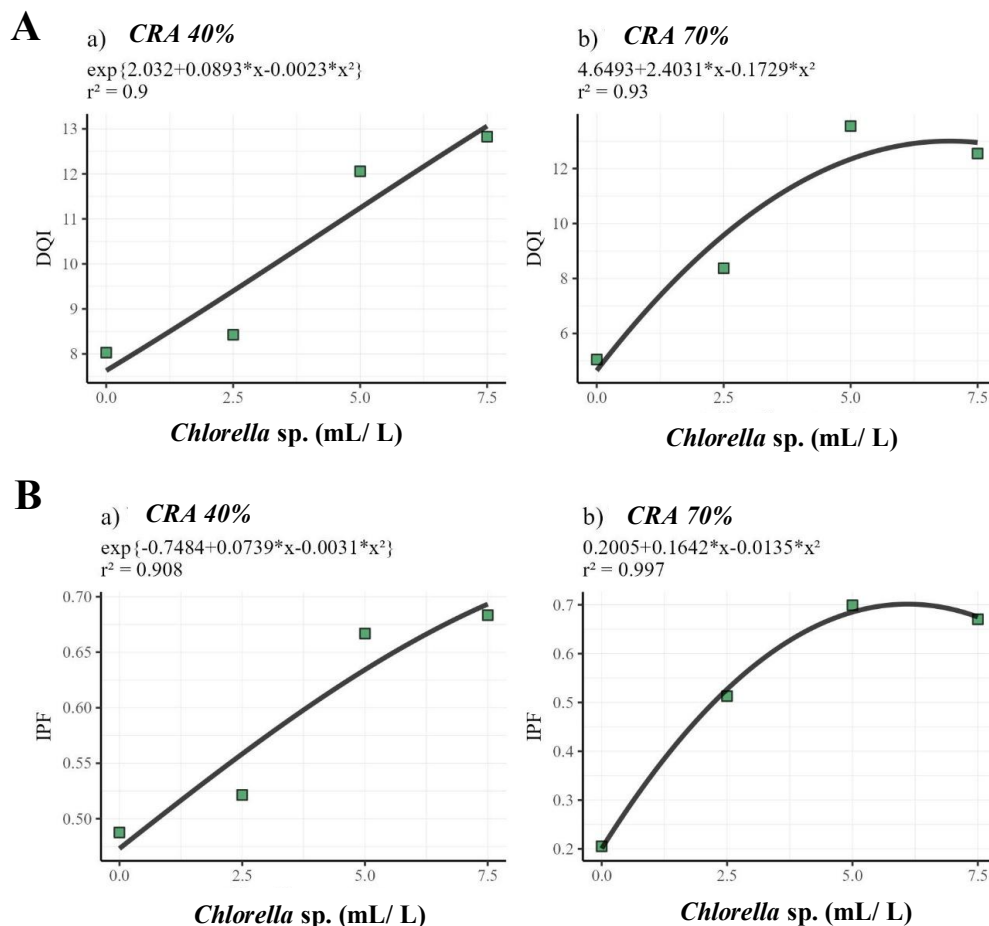
um incremento de aproximadamente 67,9% em relação ao tratamento controle (12,58 mm). Esse resultado indica um efeito expressivo do biofertilizante sobre o espessamento do caule, conforme predito pela equação ajustada.

A massa seca total apresentou valor máximo estimado de 54,01 g na dose de 6,99 mL L<sup>-1</sup> (Figura 8F), superando o controle (26,32 g) em cerca de 105%. Para a massa seca de raízes, observou-se interação com a disponibilidade hídrica: sob CRA 40%, a dose de 7,5 mL L<sup>-1</sup> resultou em 25,84 g; sob CRA 70% o máximo foi de 27,67 g na dose de 6,87 mL L<sup>-1</sup> (Figuras 8G e 8H), reforçando que a condição hídrica mais favorável potencializa a alocação de biomassa radicular.

Esses resultados confirmam que a aplicação de *Chlorella* sp. atua positivamente sobre o crescimento vegetativo e a acumulação de biomassa, com respostas mais pronunciadas em variáveis associadas à área foliar, massa seca e arquitetura radicular. O padrão de resposta predominantemente quadrático sugere a existência de um ponto de saturação fisiológica, acima do qual não há ganhos adicionais e, em alguns casos, pode ocorrer leve declínio.

A interação entre as doses de *Chlorella* sp. e os níveis de disponibilidade hídrica influenciou de forma expressiva o Índice de Qualidade de Dickson (DQI) e o Índice de Plasticidade Fenotípica (IPF) em mudas de *C. fissilis* na fase de recuperação, 100 dias após o retorno às condições hídricas ideais. As respostas observadas evidenciaram que o efeito do bioestimulante é modulável pela disponibilidade de água, reforçando a importância dessa interação para a melhoria da qualidade morfofisiológica e da capacidade adaptativa das plantas.

Sob 40% da CRA, o DQI apresentou incremento contínuo com o aumento das doses, registrando 13,10 na dose de 7,5 mL L<sup>-1</sup>, valor 71,7% superior ao controle (7,63). Pelo ajuste exponencial, o ponto de máximo do modelo é estimado em 19,41 mL L<sup>-1</sup>, com 18,15 (Figura 9A-a). Em condição de 70% da CRA, o DQI aumentou até o ponto de máximo em 6,95 mL L<sup>-1</sup>, atingindo 13,00, o que representa 179,6% acima do controle (4,65) (Figura 9A-b).



**Figura-0-8-** (A) Índice de Qualidade de Dickson (DQI) sob (a) 40% e (b) 70% da capacidade de retenção de água (CRA); (B) Índice de Plasticidade Fenotípica (IPF) sob (a) 40% e (b) 70% da CRA, em mudas de *C. fissilis* na fase de recuperação 100 dias após o retorno às condições hídricas ideais, em função de doses crescentes de *Chlorella* sp.

O IPF apresentou comportamento semelhante, com aumento progressivo em ambas as condições hídricas. Sob 40% da CRA, o ponto de máximo do modelo ocorreu em 11,92 mL L<sup>-1</sup>, com 0,735; nas doses avaliadas, o maior valor observado foi 0,692 em 7,5 mL L<sup>-1</sup>, correspondente a 46,2% acima do controle (0,473) (Figura 9B-a). Sob 70% da CRA, o índice atingiu máximo em 6,08 mL L<sup>-1</sup>, com 0,700, valor 249,0% superior ao controle (0,2005) (Figura 9B-b).

## DISCUSSÃO

### AVALIAÇÃO INICIAL : 0

A aplicação de *Chlorella* sp. em viveiros tem se destacado como uma abordagem inovadora e eficiente para a produção de mudas de alta qualidade, especialmente em um

cenário agrícola onde a demanda por práticas mais sustentáveis e eficientes se torna cada vez mais urgente. Em um contexto em que o cultivo de mudas é frequentemente limitado pela baixa disponibilidade de recursos e pelo aumento da variabilidade climática, o uso de bioestimulantes baseados em microalgas representa uma estratégia promissora. *Chlorella* sp., devido à sua composição bioquímica diversificada, rica em proteínas, aminoácidos, ácidos graxos, polissacarídeos, vitaminas e fitohormônios, tem demonstrado um impacto significativo na melhoria do desenvolvimento fisiológico e estrutural das plantas.

Os resultados observados neste estudo destacaram que a aplicação de doses crescentes de *Chlorella* sp. levou a melhorias marcantes na taxa de fotossíntese líquida (A) e na eficiência carboxilativa (A/Ci). O aumento da fotossíntese pode ser atribuído à presença de elementos importantes na composição da microalga como o magnésio, essencial para a formação da molécula de clorofila, e aminoácidos que atuam como precursores na síntese de proteínas envolvidas nos complexos fotossintéticos (PLAZA et al., 2018). Além disso, a presença de fitohormônios como auxinas e citocininas desempenha um papel crucial na expansão foliar, resultando em um aumento da área de interceptação de luz, o que, por sua vez, amplifica a eficiência na assimilação de CO<sub>2</sub> (GARCÍA-GONZÁLEZ; SOMMERFELD, 2020). Esse efeito sinérgico é particularmente relevante para mudas cultivadas em viveiros, onde o objetivo é maximizar o crescimento e a robustez antes do transplante para o campo.

A eficiência do uso da água (WUE) também apresentou melhorias significativas, indicando que *Chlorella* sp. pode desempenhar um papel vital na otimização do balanço hídrico das plantas. A capacidade da microalga de promover a regulação estomática pode ser devida à presença de compostos bioativos que influenciam a abertura e o fechamento dos estômatos, permitindo um uso mais eficiente da água sem comprometer a assimilação de CO<sub>2</sub> (COLLA et al., 2019). Os polissacarídeos presentes na *Chlorella* sp. podem aumentar a retenção hídrica nas células vegetais, contribuindo para a resiliência das mudas em ambientes com disponibilidade hídrica limitada, fator essencial para o sucesso das mudas após o transplante para o campo.

Um aspecto crítico da produção de mudas de alta qualidade é sua plasticidade fenotípica. Neste estudo, o aumento no Índice de Plasticidade Fenotípica (IPF) nas plantas tratadas com *Chlorella* sp. sugere uma maior capacidade de adaptação a condições ambientais adversas. Esse efeito pode ser relacionado à presença de aminoácidos como

prolina e glicina betaina, que atuam como osmoprotetores, ajudando as plantas a manterem o turgor celular em situações de estresse osmótico (DE MORAIS et al., 2019). A plasticidade fenotípica aprimorada é essencial para que as mudas cultivadas em viveiros sejam capazes de se adaptar rapidamente ao novo ambiente quando transplantadas, aumentando suas chances de sobrevivência e crescimento vigoroso em condições de campo.

A alocação de biomassa nas plantas tratadas também foi significativamente otimizada, como evidenciado pelo aumento na massa seca da parte aérea (MSPA) e na massa seca total. A *Chlorella* sp. é uma fonte rica em proteínas e ácidos graxos insaturados que auxiliam na síntese de membranas celulares e na sinalização metabólica, promovendo o crescimento e a robustez das plantas (BECKER, 2018). Além disso, a microalga contém macro e micronutrientes, como fósforo e potássio, que são fundamentais para o crescimento radicular e para a eficiência da translocação de nutrientes, refletindo-se no aumento do diâmetro do coleto (DQI) e na qualidade estrutural das mudas (RONGA et al., 2019).

A aplicação de *Chlorella* sp. também influenciou positivamente a composição hormonal das plantas, devido à presença de ácido indol-3-acético (AIA), ácido abscísico (ABA) e ácido giberélico (GA). Esses fitormônios desempenham papéis essenciais na regulação do crescimento e desenvolvimento das plantas, com o AIA promovendo a expansão celular e o desenvolvimento radicular

Outro efeito importante da *Chlorella* sp. é a sua contribuição para a proteção antioxidante, graças à sua composição rica em carotenoides e tocoferóis. Esses compostos auxiliam na mitigação do estresse oxidativo, protegendo o aparato fotossintético contra danos induzidos por condições adversas, como excesso de luz e estresse hídrico (GONZÁLEZ-PEÑA et al., 2021). A proteção antioxidante é vital para assegurar que as mudas mantenham sua capacidade fotossintética e metabólica durante os períodos de cultivo em viveiros e após o transplante para o campo, onde estarão sujeitas a condições ambientais mais rigorosas.

Portanto, a aplicação de *Chlorella* sp. em viveiros representa uma abordagem eficaz para a produção de mudas de alta qualidade, garantindo que estas apresentem maior vigor, resiliência e eficiência no uso de recursos. Ao promover melhorias em processos fisiológicos cruciais, como a fotossíntese, o uso da água e o crescimento estrutural, a *Chlorella* sp. desponta como uma ferramenta promissora para otimizar a produção de

mudas e aumentar suas chances de sucesso em programas de revegetação, especialmente em um contexto de agricultura sustentável.

### **AVALIAÇÃO: FOTOSSÍNTESE 0 (F0)**

A aplicação de *Chlorella* sp. teve impacto significativo nas características fisiológicas e de crescimento das plantas, especialmente em mudas que foram submetidas a estresse hídrico prolongado de 15 dias, onde o grupo controle, que não foi tratado com a *Chlorella* sp. apresentou uma taxa de fotossíntese próxima a zero. Nesse cenário, a aplicação de *Chlorella* sp. mostrou-se crucial para manter a atividade fotossintética e promover a resiliência das mudas em condições de extrema deficiência hídrica, um fator essencial para a restauração de áreas degradadas, especialmente em regiões com solos pobres e ácidos.

A aplicação de *Chlorella* sp. resultou em aumento expressivo na concentração interna de CO<sub>2</sub> (Ci) mesmo sob condição de restrição hídrica (40% da capacidade de retenção de água – CRA), associada à redução significativa na taxa de transpiração (E), indicando maior eficiência no uso da água. Esse efeito pode ser atribuído à capacidade da microalga de fornecer nutrientes essenciais, como magnésio e ferro, fundamentais para a síntese de clorofila e para a ativação da enzima Rubisco, componente central do processo fotossintético (ZHOU et al., 2016). Além disso, a presença de fitohormônios como auxinas, citocininas e ácido abscísico (ABA) em *Chlorella* sp. contribuiu para otimizar a eficiência fotossintética ao promover o crescimento celular e regular a condutância estomática, mesmo em condições de estresse hídrico (EL ARROUSSI et al., 2020; GARCÍA-GONZÁLEZ et al., 2020).

Essa complexa interação de nutrientes e reguladores de crescimento pode explicar a melhoria observada na eficiência fotossintética e no uso da água, parâmetros críticos para a formação de mudas com elevado padrão de qualidade. A presença de compostos osmoprotetores, como polissacarídeos e aminoácidos, fornecidos pela *Chlorella* sp., auxilia na manutenção do turgor celular e na modulação da abertura estomática sob déficit hídrico (REN et al., 2019). Esse mecanismo é particularmente relevante em regiões com distribuição irregular de chuvas, pois permite que as plantas otimizem a utilização da água disponível e mantenham a atividade fisiológica mesmo durante períodos prolongados de restrição hídrica.

Em relação à condutância estomática ( $g_s$ ), as plantas tratadas com *Chlorella* sp. Mostraram maior capacidade de manter seus estômatos abertos para absorção de CO<sub>2</sub>, mesmo após um período prolongado de restrição hídrica. Esse efeito é crucial para a fotossíntese das mudas em áreas degradadas, onde a disponibilidade de água é limitada (ZHANG et al., 2021). A presença de citocininas na *Chlorella* sp. pode ter facilitado essa regulação estomática, promovendo um equilíbrio entre a absorção de CO<sub>2</sub> e a conservação de água (PEREIRA et al., 2020).

Outro resultado importante foi o aumento significativo no índice de clorofila (SPAD) nas plantas tratadas com *Chlorella* sp. em comparação com o grupo controle, que mostrou uma degradação acentuada da clorofila após o período de restrição hídrica. A suplementação com *Chlorella* sp. foi capaz de fornecer nutrientes essenciais, como magnésio, que é crítico para a síntese de clorofila e para a estabilidade dos complexos de transporte de elétrons (GONZÁLEZ-PEÑA et al., 2017,). Além disso, os antioxidantes presentes na microalga ajudam a proteger os pigmentos fotossintéticos contra o estresse oxidativo, mantendo a eficiência fotossintética.

A eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm) foi significativamente preservada nas plantas tratadas com *Chlorella* sp., mesmo após o período de restrição hídrica, comparada às plantas controle que apresentaram queda acentuada. Os polissacarídeos e proteínas de choque térmico presentes na microalga parecem ter estabilizado as membranas celulares, protegendo o PSII contra danos oxidativos (EL ARROUSSI et al., 2020). Essa proteção é essencial em ambientes onde a fotoinibição pode ocorrer devido a estresses ambientais, como alta radiação e baixa disponibilidade de água.

Em termos de produção de biomassa, as plantas tratadas com *Chlorella* sp. mostraram aumento significativo na massa seca da parte aérea (MSPA), mesmo sob estresse hídrico. A presença de aminoácidos e hormônios como o ácido indol-3-acético (AIA) promoveu o desenvolvimento radicular, melhorando a absorção de nutrientes e o crescimento das partes aéreas (SILVA et al., 2020). Isso é especialmente importante para a recuperação de áreas degradadas, onde a competição por nutrientes é intensa.

Além disso, a aplicação de *Chlorella* sp. duplicou a eficiência do uso da água (WUE) das mudas quando comparada ao grupo controle, com redução significativa na taxa de transpiração. Isso pode ser atribuído à ação de osmoprotetores presentes na microalga, como prolina e glicina betaina, que ajudam a manter o turgor celular e a minimizar a perda de água por transpiração (REN et al., 2019). A maior eficiência no uso

da água é particularmente relevante em contextos de mudanças climáticas, onde a distribuição de chuvas é cada vez mais irregular e os períodos de seca se tornam mais frequentes. Esse atributo é crucial para a sobrevivência das plantas em áreas degradadas, onde a escassez de água. Neste contexto a melhoria na eficiência hídrica pode ser um fator decisivo para o sucesso de programas de restauração (ZHOU et al., 2019).

O aumento significativo no conteúdo de clorofila a (27,5 unidades) e clorofila b (7,5 unidades) nas plantas tratadas com *Chlorella* sp. em comparação ao controle é um indicativo claro da otimização da fotossíntese. Esse aumento pode ser diretamente relacionado à composição nutricional da microalga, rica em elementos essenciais como magnésio e ferro, que são cruciais para a síntese de clorofila e para o funcionamento do aparato fotossintético (BATISTA et al., 2020). O magnésio atua como cofator na ativação da enzima Rubisco, enquanto o ferro é fundamental para a formação de proteínas envolvidas no transporte de elétrons no fotossistema II (PSII). Além disso, os antioxidantes presentes em *Chlorella* sp., incluindo carotenoides e vitaminas como C e E, desempenham um papel crítico na estabilização dos pigmentos fotossintéticos, protegendo-os contra a foto-oxidação sob condições de estresse hídrico prolongado (GARCÍA-GONZÁLEZ et al., 2020).

A preservação da eficiência quântica do PSII, medida pela relação  $F_v/F_m$ , que atingiu 0,68 nas plantas tratadas em comparação a 0,62 no controle, sugere que a *Chlorella* sp. desempenha um papel crucial na proteção das membranas dos tilacóides. A presença de polissacarídeos e proteínas de choque térmico na microalga pode contribuir para a estabilização das proteínas D1 e D2 do PSII, prevenindo sua degradação sob condições de estresse oxidativo (EL ARROUSSI et al., 2020). Tal preservação da integridade do sistema fotossintético é essencial para garantir a eficiência na captação de energia luminosa, particularmente em solos degradados onde a disponibilidade de nutrientes é limitada.

A aplicação de *Chlorella* sp. também demonstrou promover um desenvolvimento estrutural robusto, evidenciado pelo aumento no diâmetro do Coleto, que alcançou 2,7 mm na dose de 7,5 mL/L, um incremento de 80% em relação ao controle. O diâmetro do coleto é um indicador crítico da qualidade de mudas, refletindo um equilíbrio entre biomassa aérea e radicular, o que aumenta a taxa de sobrevivência em condições adversas de campo (SILVA et al., 2020). Observou-se também um incremento significativo na plasticidade fenotípica (IPF), com o índice atingindo 0,8 nas plantas tratadas, em

comparação a 0,4 no controle. Essa maior plasticidade permite que as plantas se adaptem melhor a condições ambientais variáveis, aumentando sua resiliência.

O desenvolvimento radicular foi amplamente favorecido, com o comprimento das raízes atingindo 12 cm, um aumento de 50% em relação ao controle. A maior extensão das raízes é atribuída à presença de ácido indol-3-acético (AIA) na *Chlorella* sp., que estimula a divisão celular nas regiões meristemáticas, promovendo um maior desenvolvimento radicular (PEREIRA et al., 2020). Raízes mais profundas são fundamentais para a captação de água em solos profundos e secos, aumentando a resistência das plantas a períodos de estiagem.

A Massa Seca da Parte Aérea (MSPA) também foi consideravelmente melhorada, atingindo 15 g nas plantas tratadas em comparação com 10 g no controle, o que representa um incremento de 50%. Esse aumento é reflexo da maior eficiência na absorção de nutrientes, promovida pela aplicação da microalga, que melhora a alocação de recursos para o crescimento vegetativo (GARCÍA-GONZÁLEZ et al., 2020). Em ambientes onde a disponibilidade de nutrientes é limitada, como em solos ácidos e pobres, essa capacidade de maximizar a absorção de nutrientes é essencial para a restauração ecológica.

A área foliar das plantas tratadas também foi significativamente maior, especialmente sob condições de menor disponibilidade hídrica (40%), onde o aumento foi de 200% em relação ao controle. A *Chlorella* sp. mostrou-se especialmente eficaz na promoção do crescimento foliar, o que é essencial para maximizar a captação de luz e melhorar a eficiência fotossintética, permitindo maior acúmulo de biomassa em condições de déficit hídrico (PEREIRA et al., 2020). O aumento no índice SPAD, que atingiu 35 unidades nas plantas tratadas, indica uma melhoria no teor de clorofila, resultando em uma fotossíntese mais eficiente mesmo em condições de estresse.

A capacidade das plantas tratadas de manter a fotossíntese e o crescimento mesmo após um período prolongado de seca destaca o potencial do uso de *Chlorella* sp. como bioestimulante para melhorar a resiliência e a sobrevivência em ambientes áridos e de especialmente em solos pobres e ácidos característicos de áreas degradadas e de baixa fertilidade.

A capacidade desse bioestimulante de fornecer nutrientes essenciais, como aminoácidos e minerais, contribui significativamente para aumentar a eficiência fotossintética e a utilização da água, mesmo em cenários de déficit hídrico prolongado (JIANG et al., 2020). Além disso, a presença de compostos osmoprotetores, como prolina,



glicerol e polissacarídeos, presentes na *Chlorella* sp., auxilia na manutenção do turgor celular e na regulação estomática, permitindo que as plantas conservem água sem comprometer a absorção de CO<sub>2</sub> necessário para a fotossíntese (LI et al., 2019).

Estudos recentes indicam que a aplicação de microalgas pode aumentar a resistência das plantas a estresses abióticos, promovendo a estabilização das membranas celulares e a proteção do fotossistema II, evitando danos oxidativos em condições adversas (WANG et al., 2018).

### **AVALIAÇÃO: RECUPERAÇÃO (REC)**

A aplicação de *Chlorella* sp. em mudas submetidas à restrição hídrica, seguida por reidratação, promoveu melhorias expressivas na recuperação fisiológica das plantas. Esse efeito é particularmente relevante para programas de restauração de áreas degradadas, nos quais as mudas frequentemente enfrentam condições de déficit hídrico. A capacidade de retomar rapidamente processos fisiológicos essenciais após o estresse é determinante para a sobrevivência em ambientes com solos pobres e variações climáticas extremas.

A retomada da taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> após a reidratação indica que o bioestimulante favoreceu a reativação das vias fotossintéticas, acelerando o restabelecimento do metabolismo. Segundo Li et al. (2021), compostos bioativos presentes em microalgas podem estimular a regeneração da atividade enzimática da Rubisco, o que contribui para a recuperação da fotossíntese após períodos de estresse hídrico.

A elevação da eficiência no uso da água observada nas mudas tratadas sugere que a *Chlorella* sp. contribuiu para a otimização da utilização hídrica durante a fase de recuperação. Esse resultado é consistente com Zhang et al. (2023), que reportam que bioestimulantes à base de microalgas podem aumentar a retenção de água nos tecidos vegetais, favorecendo a recuperação em solos de baixa capacidade de retenção hídrica.

A resposta positiva da condutância estomática (g<sub>s</sub>) sugere que o bioestimulante facilitou a reabertura dos estômatos após a reidratação, permitindo maior troca gasosa e retomada da assimilação de CO<sub>2</sub>. Wang et al. (2021) destacam que a recuperação eficiente da condutância estomática é essencial para restabelecer o crescimento após períodos de restrição hídrica.

A redução da concentração interna de CO<sub>2</sub> (C<sub>i</sub>) após a reidratação evidencia uma maior eficiência no uso do carbono assimilado, indicando incremento na eficiência carboxilativa. De acordo com Dias et al. (2022), em condições de reidratação, a capacidade de utilizar o CO<sub>2</sub> de forma eficiente é essencial para a rápida recuperação da biomassa.

A limitação estomática observada nas fases iniciais da recuperação pode indicar uma estratégia adaptativa para conservar água, equilibrando a necessidade de fotossíntese com a preservação hídrica. Silva et al. (2020) salientam que bioestimulantes podem modular a abertura estomática, ajustando a resposta das plantas ao balanço entre conservação de água e assimilação de carbono.

A análise da interação entre a aplicação de *Chlorella* sp. e a reidratação em diferentes condições hídricas demonstrou que, sob restrição mais severa (40% CRA), as mudas tratadas apresentaram maior capacidade de reduzir o C<sub>i</sub> durante a recuperação, refletindo aumento na eficiência fotossintética. Em contrapartida, sob maior disponibilidade hídrica (70% CRA), a menor redução do C<sub>i</sub> sugere manutenção da capacidade de fixação de CO<sub>2</sub>, acelerando o processo de recuperação (González et al., 2023).

Além das respostas fisiológicas, a aplicação de *Chlorella* sp. promoveu incremento no índice de clorofila, expansão da área foliar e maior acúmulo de biomassa aérea e radicular. Esses efeitos estão relacionados à presença de nutrientes essenciais, fitormônios e compostos osmoprotetores nas microalgas, que estimulam a expansão celular e o crescimento radicular (Renuka et al., 2018; Ronga et al., 2019; Ranga Rao et al., 2021).

O aumento no Índice de Qualidade de Dickson (DQI) reforça que a aplicação de *Chlorella* sp. contribui para a formação de mudas mais equilibradas e vigorosas. Segundo Silva et al. (2020), mudas com DQI elevado apresentam maior taxa de sobrevivência e crescimento em condições adversas. Da mesma forma, o incremento no Índice de Plasticidade Fenotípica (IPF) indica maior capacidade de ajuste às flutuações ambientais, característica essencial para a adaptação em ambientes sujeitos a estresses abióticos (Dias et al., 2022).

A fertirrigação com *Chlorella* sp. surge como alternativa prática para viveiros florestais, permitindo aplicação uniforme e contínua dos compostos bioativos. Essa estratégia não apenas melhora atributos fisiológicos e morfológicos, mas também contribui para práticas de manejo mais sustentáveis, reduzindo a dependência de insumos químicos (El-Sayed et al., 2021; Zhang et al., 2021).

No contexto das mudanças climáticas, caracterizado pela irregularidade na distribuição das chuvas e maior ocorrência de secas prolongadas, o uso de *Chlorella* sp. como bioestimulante apresenta potencial para aumentar a resiliência das mudas e garantir maior taxa de sobrevivência em programas de revegetação (Zhu et al., 2021).

## CONCLUSÃO

- A aplicação de  $\sim 6,0 \text{ mL L}^{-1}$  de *Chlorella* sp. apresentou os melhores resultados para o desenvolvimento e resiliência das mudas em diferentes condições de disponibilidade hídrica. No ambiente de viveiro, essa concentração demonstrou maximizar o crescimento vegetativo, com respostas próximas ao ponto ótimo para a taxa de fotossíntese líquida (APN), eficiência do uso da água (WUE), Índice de Qualidade de Dickson (DQI) e massa seca da parte aérea (MSPA), concentrando-se entre  $\sim 5,7$  e  $6,6 \text{ mL L}^{-1}$  para a maioria das variáveis.
- Durante o período de déficit hídrico de 15 dias em que as mudas foram submetidas à ausência de água, as plantas tratadas com doses próximas a  $\sim 5,9$ – $6,3 \text{ mL L}^{-1}$  de *Chlorella* sp. mantiveram níveis mínimos de atividade fotossintética e elevada eficiência hídrica, enquanto as mudas controle atingiram fotossíntese zero. Esse resultado evidencia a capacidade das plantas tratadas de suportarem o estresse hídrico, preservando sua funcionalidade fisiológica mesmo em condições adversas.
- Após a reidratação as mudas tratadas com doses entre  $\sim 5,7$  e  $6,6 \text{ mL L}^{-1}$  apresentaram rápida retomada na assimilação de  $\text{CO}_2$ , eficiência carboxilativa ( $A/C_i$ ) e crescimento geral. Para variáveis relacionadas a biomassa total e massa seca de raízes, os melhores desempenhos ocorreram em doses mais altas, próximas a  $\sim 7,0$ – $7,5 \text{ mL L}^{-1}$ , especialmente sob menor disponibilidade hídrica, indicando que a resposta ótima depende do regime de água no solo. Esses resultados sugerem que a aplicação de *Chlorella* sp. não apenas melhora o desempenho inicial das mudas em viveiro, mas também confere maior resiliência frente a estresses hídricos, facilitando a recuperação após períodos de seca.

- Recomenda-se a aplicação de  $\sim 6,0 \text{ mL L}^{-1}$  de *Chlorella* sp. como dose-base para promover a formação de mudas de elevada qualidade e boa adaptabilidade ao ambiente, ajustando para  $\sim 7,0\text{--}7,5 \text{ mL L}^{-1}$  em condições de maior restrição hídrica (40% CRA). Diante dos resultados obtidos, sugere-se a inserção desta biotecnologia em programas de restauração ecológica e revegetação de áreas degradadas, especialmente sob condições de estresse abiótico, como estratégia promissora para avanços na implantação e no desenvolvimento das espécies.
- Este estudo contribui significativamente para a inovação no uso de bioinsumos naturais na produção de espécies florestais nativas, introduzindo evidências robustas da eficácia de *Chlorella* sp. como bioestimulante multifuncional em *Cedrela fissilis*, uma espécie vulnerável à extinção e prioritária em programas de restauração ecológica. Ao demonstrar que a aplicação da microalga promove benefícios fisiológicos duradouros, mesmo após eventos de estresse hídrico, esta pesquisa reforça a viabilidade de tecnologias sustentáveis para aumento da resiliência vegetal em viveiros e no campo
- Os resultados apresentados possuem alto potencial de transferência para políticas públicas, projetos de recuperação ambiental e práticas produtivas em bioeconomia florestal, ampliando as alternativas disponíveis para enfrentamento dos desafios impostos pelas mudanças climáticas e pela degradação ambiental no Brasil e em regiões tropicais.

## REFERÊNCIAS

- AMBROSIO, R.; ORTIZ-MARQUEZ, J. C. F.; CURATTI, L. Metabolic engineering of a diazotrophic bacterium improves ammonium release and biofertilization of plants and microalgae. **Metabolic Engineering**, v. 40, p. 59-68, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2017.01.002>.
- BATISTA, A. P.; GOUVEIA, L.; SOUSA, I. *Chlorella* biomass for protein supplementation of traditional foods. **Food Science and Technology International**, v. 26, n. 1, p. 8-19, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/1082013219877936>.
- BECKER, W. Microalgae for human and animal nutrition. In: RICHMOND, A.; HU, Q. (org.). **Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology**. 2. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2018, p. 461-503.

COLLA, G.; ROUPHAEL, Y.; CARDARELLI, M. Boosting production in hydroponics: microbial and biochemical biostimulants. **Plant Science**, v. 7, p. 282, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00282>.

COVRE, W. P.; PEREIRA, W. V. S.; GONÇALVES, D. A. M.; TEIXEIRA, O. M. M.; AMARANTE, C. B.; et al. Phytoremediation potential of *Khaya ivorensis* and *Cedrela fissilis* in copper contaminated soil. **Journal of Environmental Management**, v. 268, p. 1-8, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110733>.

DE MORAIS, M. G.; RADMANN, E. M.; COSTA, J. A. V. Bioactivity of *Spirulina* in health benefit: a mini-review. **Journal of Applied Phycology**, v. 31, p. 2357-2361, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10811-019-01855-3>.

DIAS, P., NUNES, T., ALMEIDA, J. The role of microalgae in enhancing carboxylation efficiency and biomass recovery post-drought. **Agronomy for Sustainable Development**, v.42, n.3, p.78-92, 2022 <https://doi.org/10.1007/s13593-022-00754-3>

EL ARROUSSI, H.; BENHIMA, R.; BENNIS, I. et al. Microalgae polysaccharides bio-stimulation for enhanced high-value bio-compounds in stressed-cultivated microalgae. **Frontiers in Marine Science**, v. 7, p. 381, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00381>.

EL ARROUSSI, H.; BENHIMA, R.; BENNIS, I. et al. Microalgae polysaccharides bio-stimulation for enhanced high-value bio-compounds in stressed-cultivated microalgae. **Frontiers in Marine Science**, v. 7, p. 381, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00381>.

EL-SAYED, H., RADWAN, S., EL-SAYED, M. Use of microalgae biofertilizers to enhance crop resilience to water scarcity. **Agricultural Water Management**, v.256, p.107046, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2021.107046>

GARCÍA-GONZÁLEZ, M.; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, J.; RUIZ-CANDEL, D. Algal bio-stimulants in the bioeconomy era: towards a sustainable production and use in agriculture. **Algal Research**, v. 46, p. 101775, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101775>.

GONZÁLEZ, E., COSTA, F., PÉREZ, A. Bioestimulantes e sua aplicação na recuperação de áreas degradadas. **Journal of Applied Ecology**, 60(2), 367-379, 2023. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.14398>

GONZÁLEZ-PEÑA, V.; IBAÑEZ, E.; HERRERO, M. Effects of microalgae-derived biostimulants on plants: A review. **Algal Research**, v. 54, p. 102214, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102214>.

GONZÁLEZ-PEÑA, V.; IBAÑEZ, E.; HERRERO, M. Effects of microalgae-derived biostimulants on plants: A review. **Algal Research**, v. 54, p. 102214, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102214>.

JIANG, Z.; LI, W.; ZHANG, Z. Effects of microalgae biofertilizers on water use efficiency under drought conditions. **Agricultural Water Management**, v. 241, p. 106356, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106356>.

LI, X., ZHANG, R., PATERSON, D. M., & ZHU, B. Microalgal biofertilizers and their effects on plant growth and soil health. **Applied Soil Ecology**, v.168, p.104118, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104118>

LI, Y.; HAN, W.; JIN, Z. Role of microalgae in enhancing drought tolerance in plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 162, p. 162-172, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.03.006>.

LIMA, J. F.; QUEIROZ, A. J. M.; FIGUEIRÊDO, R. M. F.; SOUZA, W. R.; DEBONSI, H. M.; SANTOS, V. F.; DANTAS, A. M. N.; ARAÚJO, R. H. C. R. Utilization of *Chlorella* sp. as biostimulant in the germination of melon seed (*Cucumis melo* L.). **Journal of Agricultural Studies**, v.8, p.750-773, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.5296/jas.v8i2.17155>.

MARENGO, J. A.; SOUZA JR, C. **Mudanças Climáticas: impactos e cenários para a Amazônia**. Brasília, DF: Rede de Sementes do Cerrado, 2018. 33 p.

MORALES-SÁNCHEZ, D., MARTINEZ-RODRIGUEZ, O., GUILLÉN-NAVARRO, K. The role of microalgae in improving soil quality and crop productivity. **Journal of Environmental Management**, v.256, p.109759, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109759>

MUNDA, I. M.; ZUPANČIČ, M.; URBAS, E.; KRALJ, P.; DEBELJAK, M. Bio-stimulant effects of *Chlorella vulgaris* extract on growth and metabolic activity of Pelargonium plants. **Horticultural Science**, v. 46, n. 1, p. 39-48, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.17221/96/2018-HORTSCI>.

NATIONS UNITED. **Resolution adopted by the General Assembly on 25 September 2015: Transforming our world: the 2030 SDG**. Disponível em: <https://undocs.org/A/RES/70/1>. Acesso em: 10 nov. 2023.

OUKARROUM, A., BUSSOTTI, F., GOLTSEV, V., KALAJI, H. M. Impact of drought stress on the photosynthetic efficiency and chlorophyll fluorescence of some species. **Agronomy**, v.10, n.9, p.1342, 2020. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091342>

PEREIRA, H.; BARRIGA, R.; GUILHERME, M.; PINHO, P. G.; CANDIDO, M. E. Evaluation of the biostimulant potential of microalgae extracts on maize. **Plants**, v. 10, n. 8, p. 1524, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants10081524>.

PLAZA, B. M.; GÓMEZ-SERRANO, C.; JIMÉNEZ-BECKER, S. Assessing the impact of microalgae as biofertilizers for horticultural crops. **Scientia Horticulturae**, v. 235, p. 420-430, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.03.037>.

QIAN, J.; JI, C.; YANG, J.; ZHAO, H.; WANG, Y.; FU, L.; LIU, Q. The advantage of afforestation using native tree species to enhance soil quality in degraded forest ecosystems. **Scientific Reports**, v. 14, art. 20022, 28 ago. 2024. DOI: 10.1038/s41598-024-71162-3

RANGA RAO, A., ANUSHA, G., & LAVANYA, M. Enhancing chlorophyll content and photosynthesis in drought-stressed plants using microalgae extracts. **Journal of Plant Nutrition**, v.44, n.8, 1205-1220, 2021. <https://doi.org/10.1080/01904167.2021.1878931>

RENUKA, N., GULDHE, A., SINGH, P., BUX, F. Effect of light intensity and nitrogen availability on lipid accumulation in microalgae for biodiesel production. **Bioresource Technology**, v.269, p.268-276, 2018 <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.08.070>

RODRIGUES, E.; CASSAS, F.; CONDE, B. E.; CRUZ, C.; BARRETTO, E. H. P.; et al. Participatory ethnobotany and conservation: a methodological case study conducted with quilombola communities in Brazil's Atlantic Forest. **Journal of Ethnobiology and**

**Ethnomedicine**, v. 16, n. 1, p. 1-13, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13002-019-0352-x>.

RONGA, D., BIAZZI, E., PARATI, K., CARMINATI, D., CARMINATI, E., & TAVA, A. Microalgal biostimulants and biofertilizers in crop production: A review. **Italian Journal of Agronomy**, v.14(3), 174-188, 2019. <https://doi.org/10.4081/ija.2019.1387>

RONGA, D.; BIAZZI, E.; PARATI, K.; CARMINATI, D.; CARMINATI, E.; TAVA, A. Microalgal biostimulants and biofertilisers in crop productions. **Agronomy**, v. 9, n. 4, p. 192, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agronomy9040192>.

SAMPAIO, A. B.; VIEIRA, D. L. M.; CORDEIRO, A. O. O.; et al. **Guia de restauração do cerrado: semeadura direta**. Brasília, DF: Rede de Sementes do Cerrado, 2015. 39 p.

SILVA, R., SANTOS, F., & OLIVEIRA, M. Regulatory effects of microalgal extracts on stomatal behavior in rehydrated plants. **Environmental and Experimental Botany**, v.175, p.104041, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104041>

SILVA, R.; SANTOS, F.; OLIVEIRA, M. Enhancing PSII efficiency using microalgae. **Bioresource Technology**, v. 270, p. 489-496, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.07.086>.

TOMBESI, S.; FRIONI, T.; SABBATINI, P.; PONI, S.; PALLIOTTI, A. *Ascophyllum nodosum* extract improves leaf thermoregulation by reducing stomatal sensitivity to VPD in *Carex schmidtii* Meinsh to alternating flooding-drought conditions. **Aquatic Botany**, v. 153, p. 33-39, 2019.

WANG, M., CHEN, L., & ZHANG, R. Improving gas exchange and water use efficiency in plants using microalgae-based biostimulants. **Journal of Experimental Botany**, v.72, n.8, p.2451-2465. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa480>

WANG, X.; LIU, C.; WANG, Y. Enhancing plant resilience using microalgal biofertilizers. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n. 9, p. 2199-2209, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1439-1>.

ZACHARIAS, S. R.; CUADRADO-PACHÓN, D.; OLIVEIRA, L. P.; BATISTA, S. G.; ARRUDA, R. C. O. Plantas lenhosas conhecidas para tecnologia em um assentamento



rural no cerrado. **Revista Etnobiología**, v.18, n.2, p.41-61, 2020. Disponível em: <https://revistaetnobiologia.mx/index.php/etno/article/view/317/368>.

ZHANG, Y., LI, T., WEN, X. Enhancing drought tolerance in plants: The role of microalgae-based biostimulants. **Plant Science**, v.325, p.111484, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2021.111484>

ZHOU, J.; ZHU, C.; WU, Z. Improving water use efficiency with microalgae biofertilizers. **Plant Science**, v. 303, p. 110742, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110742>.

ZHU, Y.; HUANG, J.; LIU, Y. Microalgae biostimulants for improving plant drought resistance. **Plant Science**, v. 303, p. 110737, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110737>.

## **CAPÍTULO 2 – A BIOESTIMULAÇÃO COM *Chlorella* sp. INDUZ AJUSTES ENZIMÁTICOS, ANATÔMICOS E NUTRICIONAIS CAPAZES DE ATENUAR O ESTRESSE HÍDRICO EM *Cedrela fissilis* Vell?**

### **RESUMO**

As mudanças climáticas, ao intensificarem os eventos de déficit hídrico, impõem desafios substanciais à produção de mudas florestais destinadas à restauração ecológica. Nesse contexto, a utilização de bioinsumos de origem microalgal, como *Chlorella* sp., tem sido explorada como alternativa sustentável, capaz de modular respostas morfoanatômicas, nutricionais e bioquímicas em plantas sob estresse abiótico. Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da aplicação de diferentes doses de *Chlorella* sp. (0; 2,5; 5,0 e 7,5 mL planta<sup>-1</sup>) sobre mudas de *C. fissilis* submetidas a dois níveis hídricos (40% e 70% da capacidade de retenção de água). O experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados, em esquema fatorial 4×2, com avaliações realizadas em períodos: antes do estresse hídrico (T0), durante o déficit (F0) e após a reidratação (REC). A dose de 5 mL planta<sup>-1</sup> proporcionou incremento na espessura do parênquima paliádico, na densidade estomática, na acumulação foliar de macronutrientes, com destaque para o nitrogênio e na atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD) e peroxidase (POD). A aplicação de *Chlorella* sp. constitui uma estratégia tecnicamente eficaz para mitigar os efeitos do estresse hídrico, promovendo a formação de mudas com elevada qualidade anatômica, nutricional e bioquímica sob condições ambientais adversas.

**Palavras-chaves:** *Cedro Rosa.*; déficit hídrico; anatomia foliar; capacidade antioxidante; bioinsumos.

### **ABSTRACT**

Climate change, by intensifying drought events, imposes substantial challenges on the production of forest seedlings intended for ecological restoration. In this context, the use of microalgae-based bioinputs, such as *Chlorella* sp., has been explored as a sustainable alternative capable of modulating morpho-anatomical, nutritional, and biochemical responses in plants under abiotic stress. This study aimed to evaluate the

effects of different doses of *Chlorella* sp. (0, 2.5, 5.0, and 7.5 mL plant<sup>-1</sup>) on *Cedrela fissilis* seedlings subjected to two water availability levels (40% and 70% of water retention capacity). The experiment was conducted in a randomized block design with a 4×2 factorial scheme, with evaluations performed at three experimental stages: before water stress (T0), during drought (F0), and after rehydration (REC). The 5 mL plant<sup>-1</sup> dose resulted in increased palisade parenchyma thickness, stomatal density, foliar accumulation of macronutrients especially nitrogen and enhanced activity of antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD). The application of *Chlorella* sp. represents a technically effective strategy for mitigating the effects of water stress, promoting the development of seedlings with superior anatomical, nutritional, and biochemical quality under adverse environmental conditions.

**Keywords:** *Cedro Rosa*; water deficit; leaf anatomy; antioxidant capacity; bioinputs.

## INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas vêm alterando profundamente a dinâmica dos ecossistemas, impondo desafios significativos à sustentabilidade ambiental. O aumento da temperatura média global, aliado à maior frequência de secas prolongadas e à irregularidade das chuvas, tem comprometido o crescimento e o desenvolvimento das plantas, especialmente em regiões tropicais (IPCC, 2022).

Entre os impactos mais severos desse cenário, destaca-se o avanço da degradação dos solos e da cobertura vegetal nativa. O Brasil, em particular, abriga milhões de hectares de áreas degradadas, cuja recuperação demanda ações urgentes e efetivas. Nesse contexto, o reflorestamento com espécies nativas adaptadas às condições climáticas adversas surge como uma estratégia essencial para restaurar a funcionalidade ecológica, promover o sequestro de carbono e recuperar a biodiversidade (ZHOU et al., 2022; HALPERN et al., 2015).

No entanto, o sucesso dos projetos de restauração ecológica também está associado à qualidade das mudas utilizadas. A produção de mudas resistentes à deficiência hídrica é um dos principais entraves enfrentados em viveiros florestais, especialmente frente à variabilidade hídrica imposta pelas mudanças climáticas. Durante o desenvolvimento inicial, as plantas são altamente suscetíveis ao estresse hídrico, que pode

comprometer sua sobrevivência, crescimento e estabelecimento em campo (ZHAO et al., 2022).

As respostas das plantas à escassez de água envolvem ajustes fisiológicos, anatômicos e metabólicos complexos. Entre os mecanismos ativados, destacam-se o fechamento estomático, o acúmulo de solutos osmoprotetores como a prolina e o aumento da atividade das enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD) e peroxidase (POD), que atuam no controle das espécies reativas de oxigênio (ERO) geradas em excesso (MITTLER, 2002; TAIZ et al., 2017).

Adicionalmente, alterações estruturais, como o espessamento da epiderme foliar e a reorganização do parênquima, contribuem para reduzir a perda de água por transpiração e garantir maior eficiência no uso hídrico (SOUZA et al., 2020). Essas adaptações, muitas vezes acompanhadas por ajustes nutricionais, revelam a complexidade das interações entre morfologia, metabolismo e ambiente.

Constata-se então, que o uso de bioinsumos como ferramentas promotoras da tolerância ao estresse vem sendo amplamente estudado. Produtos à base de microalgas, como *Chlorella* sp., têm demonstrado grande potencial na indução de respostas fisiológicas benéficas, graças à sua composição rica em aminoácidos, vitaminas, hormônios vegetais, antioxidantes e polissacarídeos bioativos (GAO et al., 2021; SAFONOVA et al., 2020).

A aplicação de *Chlorella* sp. pode estimular o crescimento vegetal mesmo sob deficiência hídrica, atuando na ativação do sistema antioxidante, na melhora da absorção de nutrientes e na modulação anatômica e metabólica (KUSVURAN e CAN, 2020; MOON et al., 2024). Além disso, há evidências de efeitos residuais benéficos, com persistência das respostas fisiológicas após a reidratação, o que pode ser crucial para o sucesso em condições de campo altamente desuniformes e/ou variáveis (LI et al., 2019).

A espécie *C. fissilis*, nativa da América do Sul, tem importância ecológica, madeireira e fitoterápica, sendo amplamente recomendada para projetos de reflorestamento e restauração ambiental. Entretanto, sua produção ainda carece de informações técnico-científicas robustas quanto ao manejo nutricional e à tolerância ao estresse hídrico (ZACHARIAS et al., 2020; COVRE et al., 2020).

Considerando a necessidade de estratégias sustentáveis para a produção de mudas adaptadas a condições ambientais adversas e a escassez de estudos específicos para *C. fissilis*, formulou-se a hipótese de que a aplicação da microalga *Chlorella* sp. é

capaz de atenuar os efeitos do estresse por restrição hídrica ao potencializar a absorção de nutrientes, modular respostas antioxidantes e favorecer a recuperação fisiológica das mudas após a reidratação.

Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar os efeitos de doses de *Chlorella* sp. sobre a anatomia foliar, o estado nutricional e atividade enzimática antioxidante em mudas da espécie, cultivadas sob diferentes disponibilidades hídrica.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os frutos maduros de *Cedrella fissilis* Vell. foram coletados aleatoriamente de matrizes em área remanescente de Cerrado (Autorização de Acesso e de Remessa de Amostra de Componente do Patrimônio Genético nº 010220/2015-1 – CNPq/CGEN/MMA).

A semeadura foi realizada em tubetes de 280 cm<sup>3</sup> preenchidos com solo + areia + substrato comercial Bioplant<sup>®</sup> (3:1:1) constituído de torta de filtro, casca de pinus, fibra de coco, casca de arroz, turfa de sphagnum, gesso agrícola e calcário, mantendo o substrato sempre com 70% da capacidade de retenção de água.

O transplântio das mudas para vasos com capacidade de 7 dm<sup>3</sup> foi realizado quando as mudas atingiram altura média de 10 cm, o que ocorreu aos 65 dias após a semeadura. Os vasos foram preenchidos com Oxisols correspondente ao Latossolo Vermelho Distroférrico (SANTOS et al., 2018) de textura argilosa com características químicas: pH em água = 5,05; P = 0,02 mg dm<sup>3</sup>; Ca, Mg, K, Al, H+Al, SB e CTC com 0,69; 0,38; 0,11; 0,086; 6,57; 1,17 e 7,74 cmol<sub>c</sub> dm<sup>3</sup>, respectivamente, e saturação por base = 15,1%. Os vasos foram alocados em viveiro tipo telado agrícola com cobertura superior e lateral com tela de nylon de coloração preta com 50% de sombreamento e proteção superior de cobertura plástica de 150 µm.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, e os tratamentos foram arrançados em esquema fatorial 4 x 2, com quatro repetições, e a unidade experimental foi constituída por um vaso com duas plantas cada, testando quatro doses de *Chlorella* sp.: 0; 2,5; 5,0; 7,5 mL/planta aplicada de 7 em 7 dias durante 1 mês sendo feitas 4 aplicação.

Os vasos foram vedados na parte inferior com fita adesiva e receberam irrigação de forma a manter 40 e 70% da capacidade de retenção de água segundo Souza et al.

(2000), onde a CRA de 100% foi determinada por meio do conteúdo de água retida após o escoamento e as CRA de 40 e 70%, obtidas por meio de regra de três simples em função do peso.

Em seguida, todos os vasos foram pesados em balança de precisão (0,001 g) e a irrigação individualizada foi realizada a cada dois dias, com água em quantidade suficiente para atingir o peso pré-estabelecido para cada tratamento. Os vasos foram mantidos sob telado plástico para evitar contato com a água de chuva.

As mudas receberam quatro aplicações das respectivas doses de *Chlorella* sp. ao longo de 30 dias, com intervalos de sete dias entre cada aplicação. Após a última aplicação, foi mantido um intervalo de 15 dias antes da realização da primeira avaliação (T0), permitindo a absorção e manifestação inicial dos efeitos fisiológicos do bioestimulante. Somente então foram iniciados os tratamentos com as duas disponibilidades hídricas (40% e 70% da capacidade de retenção de água CRA).

As avaliações foram realizadas em 3 períodos: T0 - início do experimento—tempo zero), período antes de iniciar a suspensão da irrigação; F0 - quando os valores da fotossíntese nas mudas sob restrição hídrica chegaram próximos à zero, quando ocorreu a irrigação homogênea para todos os vasos; REC 100 dias após a padronização da irrigação, quando as mudas foram mantidas sob irrigação contínua, semelhante ao controle.

Foram realizadas análises anatômicas, nutricionais e bioquímicas *Chlorella* sp. Para a caracterização anatômica foliar, fragmentos do terço médio das folhas completamente expandidas foram coletados no período de maior expressão morfofisiológica. O material foi fixado em solução FAA 50% (formaldeído, ácido acético e etanol), desidratado em série etanólica crescente e incluído em parafina histológica. Os blocos foram seccionados com auxílio de micrótomo rotativo, com cortes transversais de aproximadamente 10 µm de espessura. As lâminas foram coradas com safranina 1% e azul de astra 1%, montadas em resina sintética e analisadas em microscópio óptico acoplado a câmera digital. As imagens obtidas foram avaliadas com o software ImageJ®, sendo realizadas medições em cinco campos visuais por amostra, com três repetições por planta. Foram mensuradas as espessuras da epiderme (E), epiderme abaxial (EB), parênquima paliçádico (PP) e parênquima lacunoso (PL), com o objetivo de identificar alterações estruturais induzidas pela aplicação de *Chlorella* sp. e pelo déficit hídrico.

A análise nutricional foi realizada para verificar a influência da bioestimulação com *Chlorella* sp. sobre a absorção e o acúmulo de macronutrientes nas folhas. As amostras foliares foram secas em estufa de ventilação forçada a  $60 \pm 2$  °C por 72 horas e moídas em moinho tipo Willey com peneira de 1 mm. O teor de nitrogênio (N) foi determinado pelo método de Kjeldahl com digestão sulfúrica, catalisador e destilação com titulação. Os teores de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) foram obtidos após digestão nitroperclórica, sendo o P quantificado por espectrofotometria, o K por fotometria de chama, e o Ca e Mg por espectrofotometria de absorção atômica. As metodologias seguiram os protocolos descritos por Malavolta, Vitti e Oliveira (1997), e os resultados foram expressos em  $\text{g kg}^{-1}$  de matéria seca.

Foram avaliadas as atividades das enzimas antioxidantes nas folhas e raízes de cada tratamento utilizando tecidos congelados em nitrogênio líquido. Uma quantidade de 1 g de cada amostra foi pesada e macerada em uma solução de 6 mL contendo 0,3 g de polivinilpirrolidona (PVP) diluída em 100 mL de tampão fosfato de potássio (0,2 M) (COSTA et al., 2020). Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 4000 rpm por 10 minutos e o sobrenadante foi usado como um extrato enzimático para determinar a atividade da superóxido dismutase (SOD) e da peroxidase (POD), de acordo com Broetto (2014). A atividade da catalase foi determinada segundo Aebi (1984), monitorando-se a decomposição do peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) por meio da redução da absorbância a 240 nm, em espectrofotômetro UV-Vis. A reação foi iniciada pela adição do extrato enzimático a uma solução de  $\text{H}_2\text{O}_2$  em tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0), totalizando 3 mL de volume reacional. A diminuição da absorbância foi registrada por 1 minuto e a atividade enzimática expressa em  $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2$  decompostos por minuto por miligrama de proteína ( $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ ).

Para cada período, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando identificada significância estatística pelo teste F ( $p \leq 0,05$ ), procedeu-se à análise de regressão para os efeitos das doses de *Chlorella* sp., ajustando-se modelos lineares e quadráticos ( $p \leq 0,05$ ). As interações significativas entre os fatores foram exploradas por meio de análise de regressão para as doses de *Chlorella* sp. e comparação de médias pelo teste F para os níveis de capacidade de retenção de água.

## **RESULTADOS**

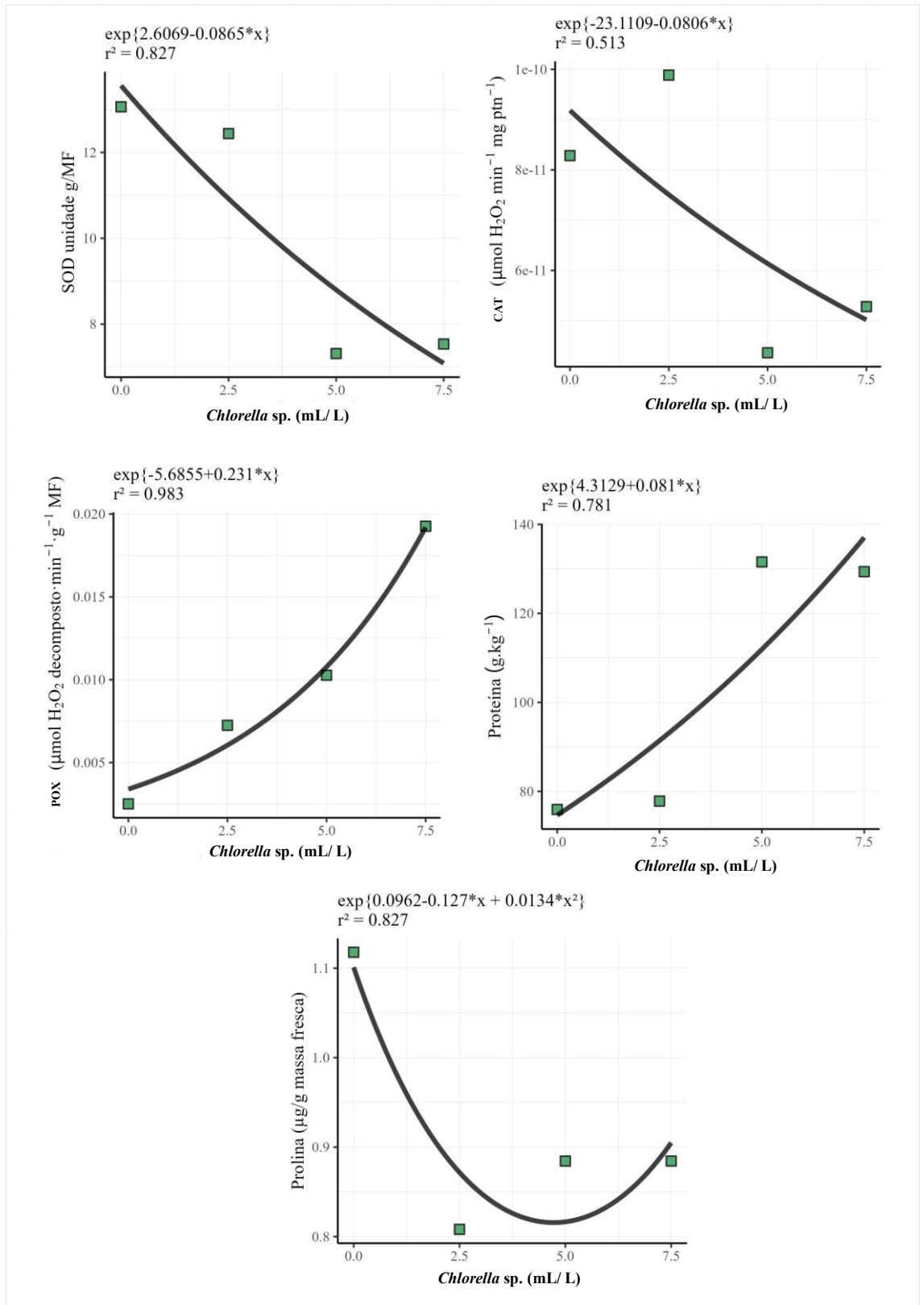
### **Avaliação 0 (inicial caracterização)**

A aplicação de diferentes doses de *Chlorella* promoveu variações nos parâmetros bioquímicos avaliados em mudas de cedro, mesmo antes da imposição do estresse hídrico.

A atividade da enzima superóxido dismutase (Figura 1) (SOD) foi mais elevada nas plantas que não receberam *Chlorella*, com valores acima de 12 unidades  $\text{g}^{-1}$  de massa fresca. À medida que a dose da microalga aumentou, observou-se uma redução gradual da atividade, chegando a valores próximos de 7 unidades  $\text{g}^{-1}$  na maior dose (7,5 mL/planta).

A catalase apresentou comportamento semelhante sendo que a maior atividade foi registrada na ausência da microalga, e houve redução com o aumento das doses. Nas doses de 5 e 7,5 mL/planta, os valores de atividade enzimática foram inferiores a  $8 \times 10^{-11}$   $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  de proteína, enquanto na dose zero ultrapassaram  $1 \times 10^{-10}$ .





**Figura 0-1** Parâmetros bioquímicos avaliados em mudas de *C. fissilis* submetidas a doses crescentes de *Chlorella sp.* A) Atividade da superóxido dismutase (SOD); B) Atividade

da catalase (CAT); C) Atividade da peroxidase (POD); D) Teor de proteínas solúveis total; E) Prolina, avaliadas no início do Experimento (T0)

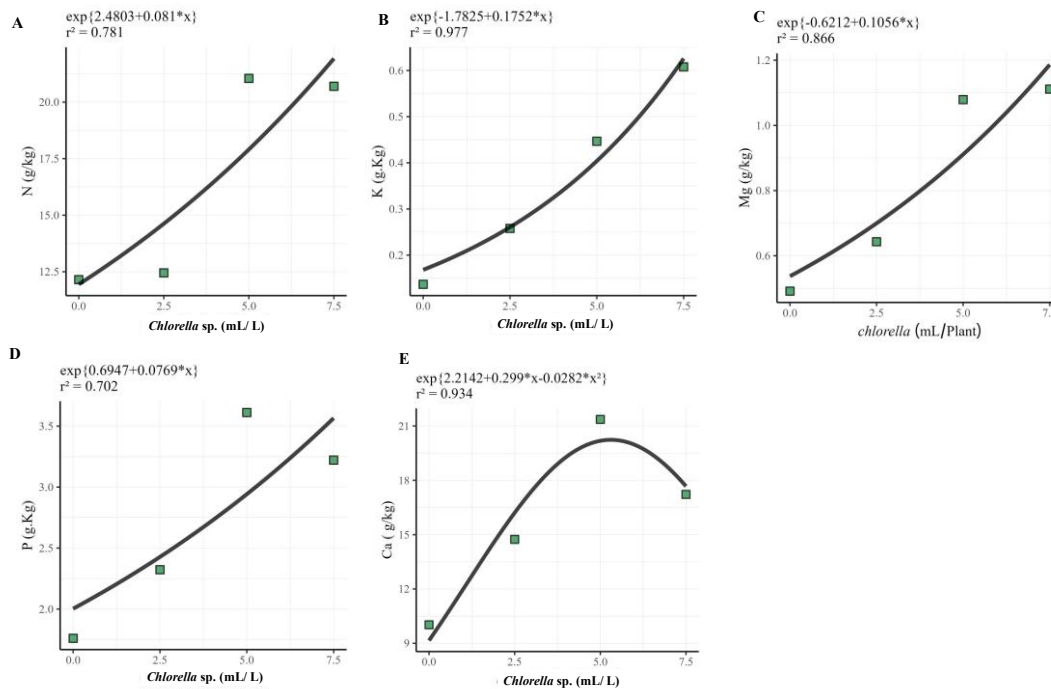
Observou-se um incremento expressivo na atividade da enzima peroxidase em função das doses crescentes de *Chlorella* sp. aplicadas. As plantas do grupo controle, que não receberam a microalga, apresentaram os menores valores enzimáticos, com atividade próxima de  $0,004 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ . Em contraste, a dose de  $7,5 \text{ mL planta}^{-1}$  promoveu um aumento superior a 400% na atividade da enzima, atingindo valores acima de  $0,020 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ .

De maneira semelhante, os teores de proteínas totais foliares aumentaram substancialmente com a aplicação da microalga. Na ausência de *Chlorella* sp., os valores ficaram abaixo de  $80 \text{ g kg}^{-1}$ , ao passo que, nas doses mais elevadas, os teores superaram  $130 \text{ g kg}^{-1}$ , representando um acréscimo de aproximadamente 62,5%.

A concentração de prolina nas mudas de *Cedrela fissilis* Vell apresentou resposta quadrática às doses de *Chlorella* sp. O maior acúmulo foi observado no tratamento controle ( $0 \text{ mL planta}^{-1}$ ), com aproximadamente  $1,11 \mu\text{g g}^{-1}$  de massa fresca. A partir da aplicação de  $2,5 \text{ mL planta}^{-1}$ , houve redução expressiva na concentração de prolina, atingindo o valor mínimo ( $\sim 0,81 \mu\text{g g}^{-1}$ ) próximo a esta dose, o que representa decréscimo de cerca de 27% em relação ao controle. Nas doses mais elevadas ( $5,0$  e  $7,5 \text{ mL planta}^{-1}$ ), observou-se incremento gradual nos teores, embora sem alcançar os níveis iniciais do controle.

O teor de nitrogênio (N) (Figura 2) aumentou progressivamente conforme a dose da microalga foi elevada. Na ausência de aplicação, os valores ficaram em torno de  $12,5 \text{ g/kg}$ , enquanto na maior dose ( $7,5 \text{ mL/planta}$ ), os teores ultrapassaram  $21 \text{ g/kg}$ .

Comportamento semelhante foi observado para o potássio (K), cujos valores partiram de cerca de  $0,2 \text{ g/kg}$  nas plantas não tratadas, alcançando níveis superiores a  $0,6 \text{ g/kg}$  na maior dose aplicada.



**Figura 0-2-**Teores foliares de macronutrientes em mudas de *C. fissilis* submetidas a doses crescentes de *Chlorella* sp. em condições hídricas ideal. A) Nitrogênio (N); B) Potássio (K); C) Magnésio (Mg); D) Fósforo (P); E) Cálcio (Ca).

O teor de magnésio (Mg) também apresentou tendência crescente. Os menores valores foram observados na dose zero, com aumento gradual até atingir valores próximos de 1,2 g/kg nas doses mais altas de *Chlorella*.

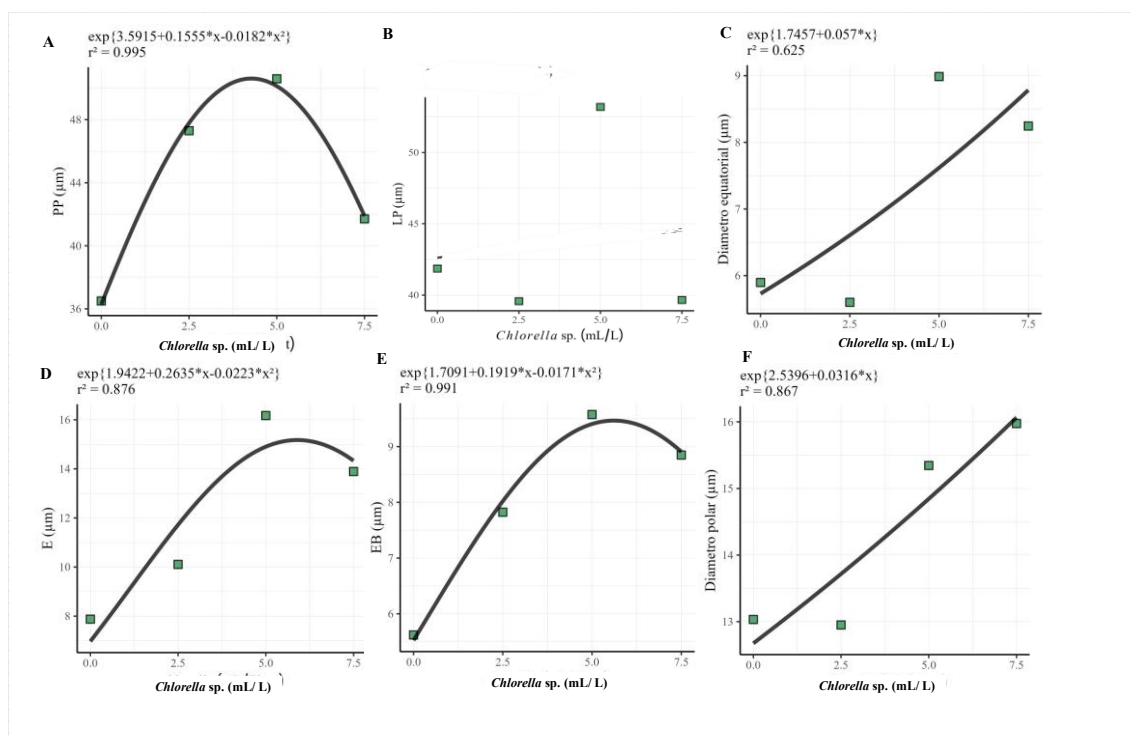
Para o fósforo (P), a resposta também foi positiva em relação às doses da microalga. O teor inicial ficou próximo de 2,0 g/kg e aumentou progressivamente, chegando a ultrapassar 3,5 g/kg na dose mais elevada.

O teor foliar de cálcio (Ca) apresentou resposta quadrática crescente até um ponto ótimo, seguido de redução nas doses mais elevadas de *Chlorella* sp. O valor máximo foi registrado na dose estimada de aproximadamente 5,3 mL planta<sup>-1</sup>, atingindo 21,1 g kg<sup>-1</sup>, o que representa um incremento de cerca de 120% em relação ao controle (9,6 g kg<sup>-1</sup>). Em doses inferiores (2,5 mL planta<sup>-1</sup>), o aumento foi expressivo, alcançando 15 g kg<sup>-1</sup>, enquanto na dose máxima aplicada (7,5 mL planta<sup>-1</sup>) observou-se leve redução para aproximadamente 17 g kg<sup>-1</sup>.

As análises anatômicas foliares (Figura 3) revelaram que a aplicação de doses crescentes de *Chlorella* sp. promoveu alterações estruturais nas folhas de mudas de *C. fissilis*.

Na espessura do parênquima paliçádico (PP) observou-se efeito quadrático das doses de *Chlorella* sp., com ponto máximo estimado em 4,27 mL L<sup>-1</sup>, atingindo 50,58 µm, valor 39,4% superior ao registrado no controle (36,29 µm).

A espessura do parênquima lacunoso (LP) apresentou efeito significativo em resposta às doses de *Chlorella* sp. ( $p \leq 0,05$ ); entretanto, não foi possível ajustar modelos de regressão que representassem adequadamente o comportamento da variável. As médias indicaram variações pontuais, com o maior valor observado na dose de 5,0 mL L<sup>-1</sup>



**Figura 0-3-**Parâmetros anatômicos foliares de mudas de *C. fissilis* tratadas com doses crescentes de *Chlorella* sp. em condições hídricas ideal. A) Espessura do parênquima paliçádico (PP); B) Espessura do parênquima lacunoso (LP); C) Diâmetro equatorial dos estômatos; D) Espessura da epiderme Adaxial, E) Espessura da epiderme Abaxial, F) Diâmetro polar.

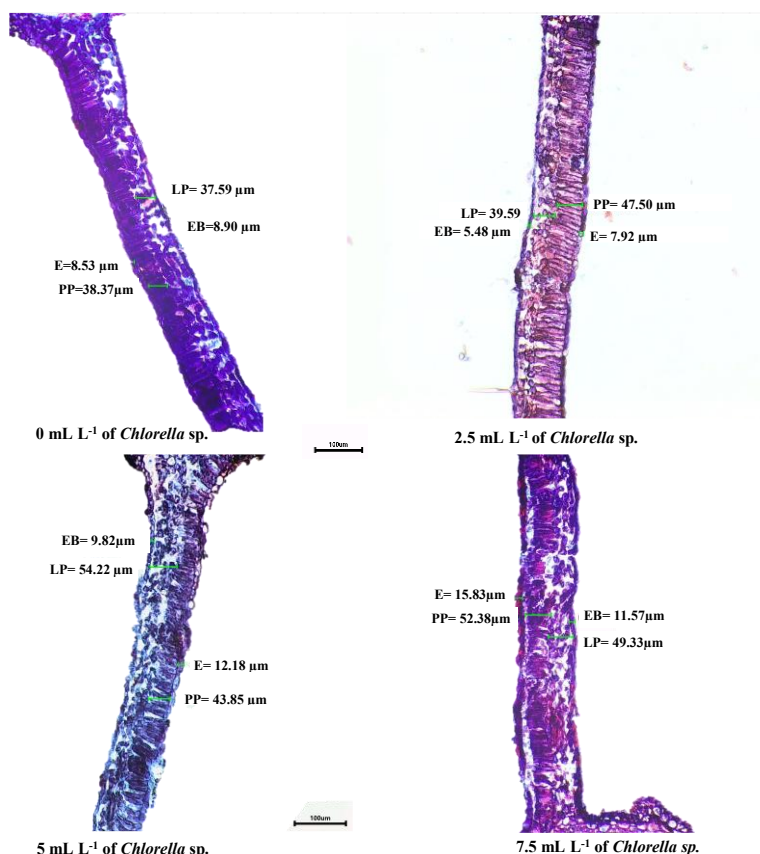
O parênquima lacunoso (LP) apresentou efeito significativo, porém sem ajuste adequado ao modelo de regressão. Os maiores valores ocorreram na dose de 5,0 mL L<sup>-1</sup> e os menores em 2,5 mL L<sup>-1</sup>, sem padrão consistente que permitisse identificar um ponto ótimo.

O diâmetro estomático equatorial exibiu incremento linear, passando de 5,73 µm no controle para 8,79 µm na dose de 7,5 mL L<sup>-1</sup>, o que representa aumento de 53,3%.

A espessura da epiderme (E) apresentou comportamento quadrático, com valor máximo de 15,19  $\mu\text{m}$  na dose de 5,91  $\text{mL L}^{-1}$ , correspondendo a um incremento de 117,8% em relação ao controle (6,97  $\mu\text{m}$ ).

De forma semelhante, a espessura da epiderme na face abaxial (EB) também seguiu modelo quadrático, alcançando 9,46  $\mu\text{m}$  na dose de 5,61  $\text{mL L}^{-1}$ , valor 71,3% superior ao do controle (5,52  $\mu\text{m}$ ).

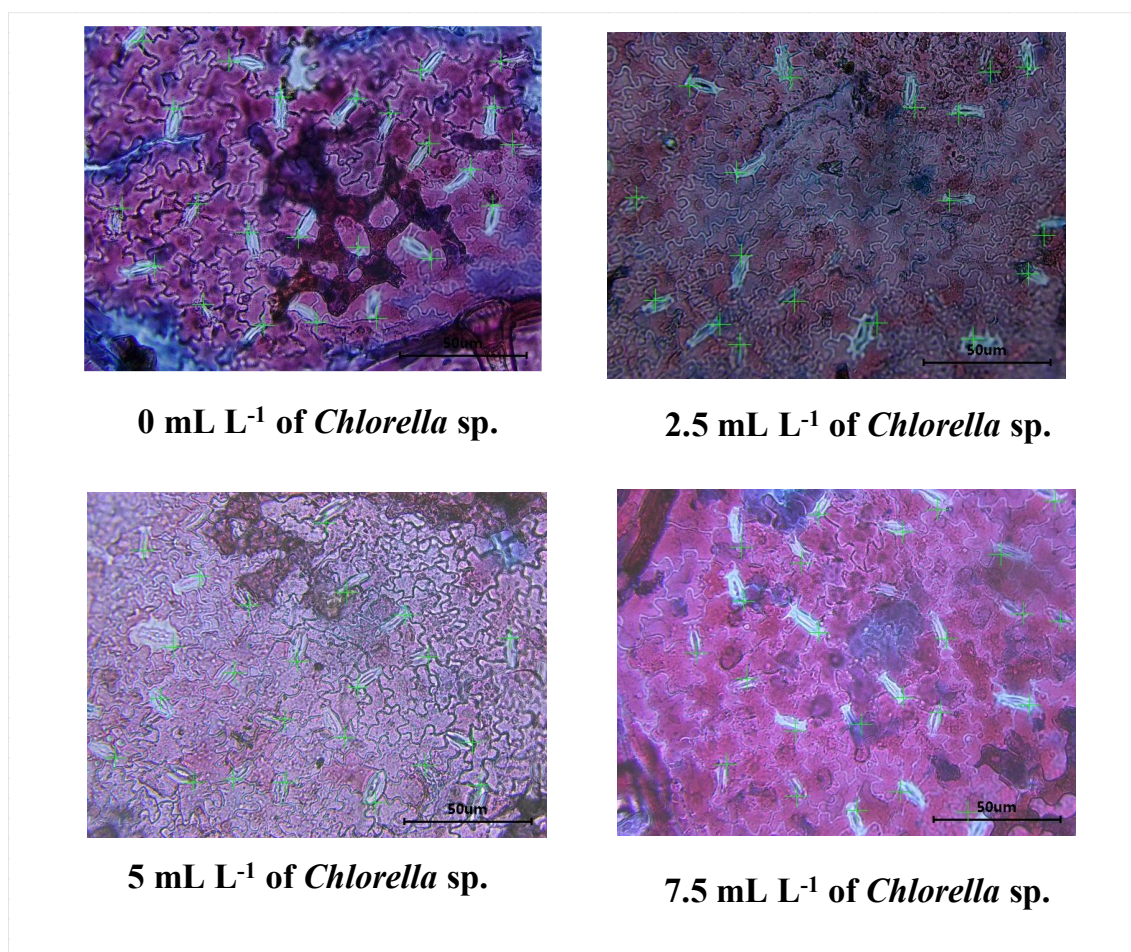
O diâmetro estomático polar apresentou aumento linear, variando de 12,67  $\mu\text{m}$  no controle para 16,06  $\mu\text{m}$  na dose de 7,5  $\text{mL L}^{-1}$ , o que equivale a 26,7% de acréscimo. Na avaliação visual, observa-se um aumento progressivo nas espessuras dos tecidos foliares (Figura 4) com o incremento das doses de *Chlorella* sp. A dose de 5  $\text{mL planta}^{-1}$  proporcionou maior espessura do parênquima lacunoso (LP = 54,22  $\mu\text{m}$ ) e valores elevados de epiderme abaxial (EB = 9,82  $\mu\text{m}$ ) e epiderme adaxial (E = 12,18  $\mu\text{m}$ ), indicando maior desenvolvimento estrutural da lâmina foliar.



**Figura 0-4**-Análise paradérmica do parênquima lacunoso (LP), parênquima paliçádico (PP), epiderme (E) e epiderme abaxial (EB), de folhas de *C. fissilis* sob doses crescentes de *Chlorella* sp. (0; 2,5; 5,0; e 7,5  $\text{mL L}^{-1}$ ) em condições hídricas ideal.

Esse comportamento anatômico sugere maior potencial de armazenamento de água e gás, além de barreira mecânica mais eficiente. A dose de 2,5 mL planta<sup>-1</sup> apresentou o maior valor de parênquima paliádico (PP = 47,50 μm), evidenciando maior capacidade fotossintética, ainda que com menor espessura epidérmica.

A densidade estomática (Figura 5) foi claramente influenciada pelas doses de *Chlorella* sp., com notável aumento na quantidade de estômatos visíveis a partir da dose de 2,5 mL planta<sup>-1</sup>.

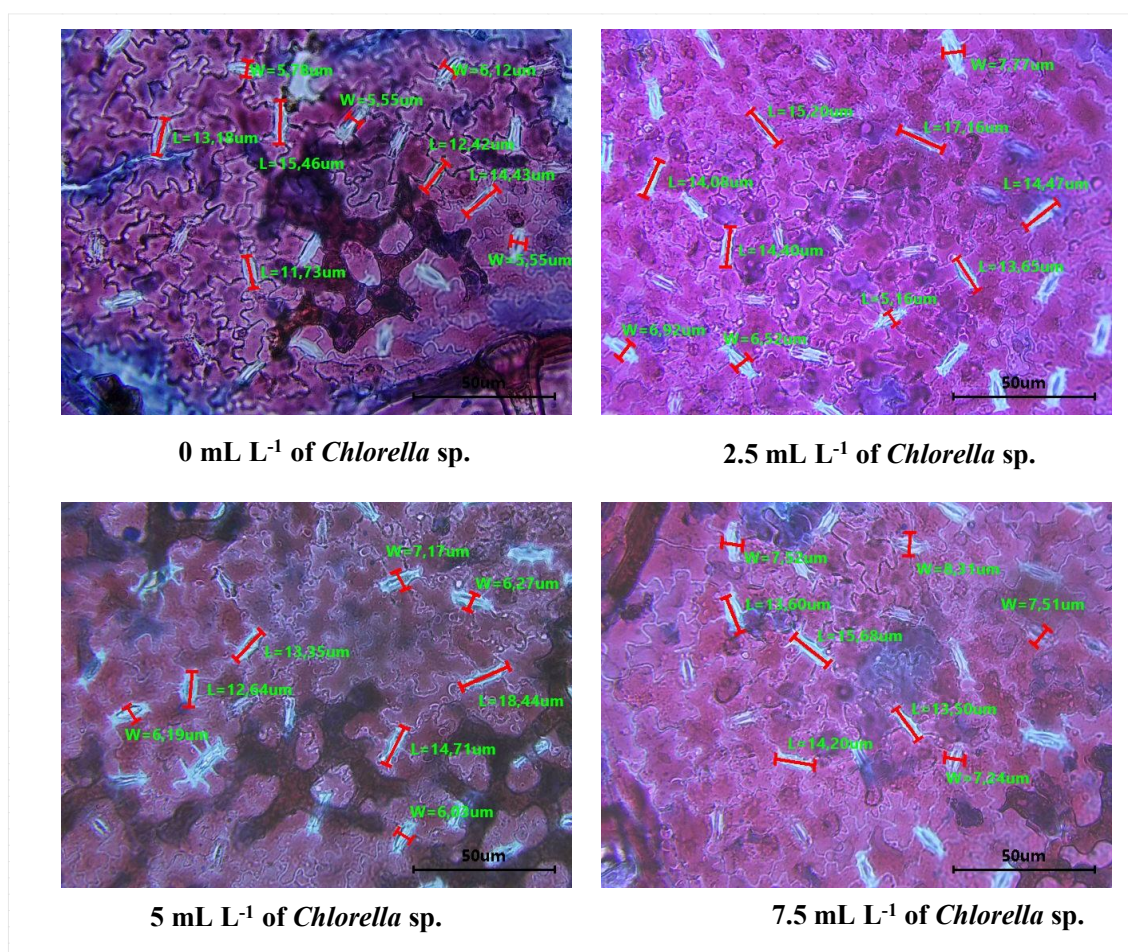


**Figura 0-5-**Densidade estomática em folhas totalmente expandidas de *Cedrela fissilis* Vell. sob doses crescentes de *Chlorella* sp. em condição hídrica ideal.

A maior uniformidade e distribuição estomática foram observadas na dose de 5 mL planta<sup>-1</sup>, sugerindo controle estomático eficiente, o que favorece as trocas gasosas e a regulação hídrica da planta, aspectos fundamentais para a adaptação a ambientes degradados.

Em relação às dimensões dos estômatos (Figura 6), a aplicação de *Chlorella* sp. influenciou significativamente o comprimento (L) e a largura (W) estomática. A dose de 5 mL planta<sup>-1</sup> promoveu maior equilíbrio entre comprimento (L ≈ 14,7–18,4 μm) e largura (W ≈ 6,1–7,8 μm), resultando em poros estomáticos mais bem desenvolvidos, o que favorece maior controle osmótico e eficiência no uso da água.

Na dose de 7,5 mL planta<sup>-1</sup>, os estômatos mantiveram bom desenvolvimento, porém com maior variação nas dimensões, o que pode indicar início de desequilíbrio na regulação estomática.



**Figura 0-6-**Dimensões estomáticas em folhas de *C. fissilis* sob diferentes doses de *Chlorella* sp. em condições hídricas ideal. (L: Comprimento, W:largura)

#### Avaliação: F0

O teor de proteínas solúveis (Figura 7) aumentou progressivamente com as doses de *Chlorella* sp., independentemente do nível de CRA. Na dose de 7,5 mL/planta, os

valores foram similares, entre 40% e 70% da CRA, com diferença inferior a 10%, evidenciando que a aplicação da microalga foi capaz de preservar o acúmulo proteico, mesmo sob deficiência hídrica severa.

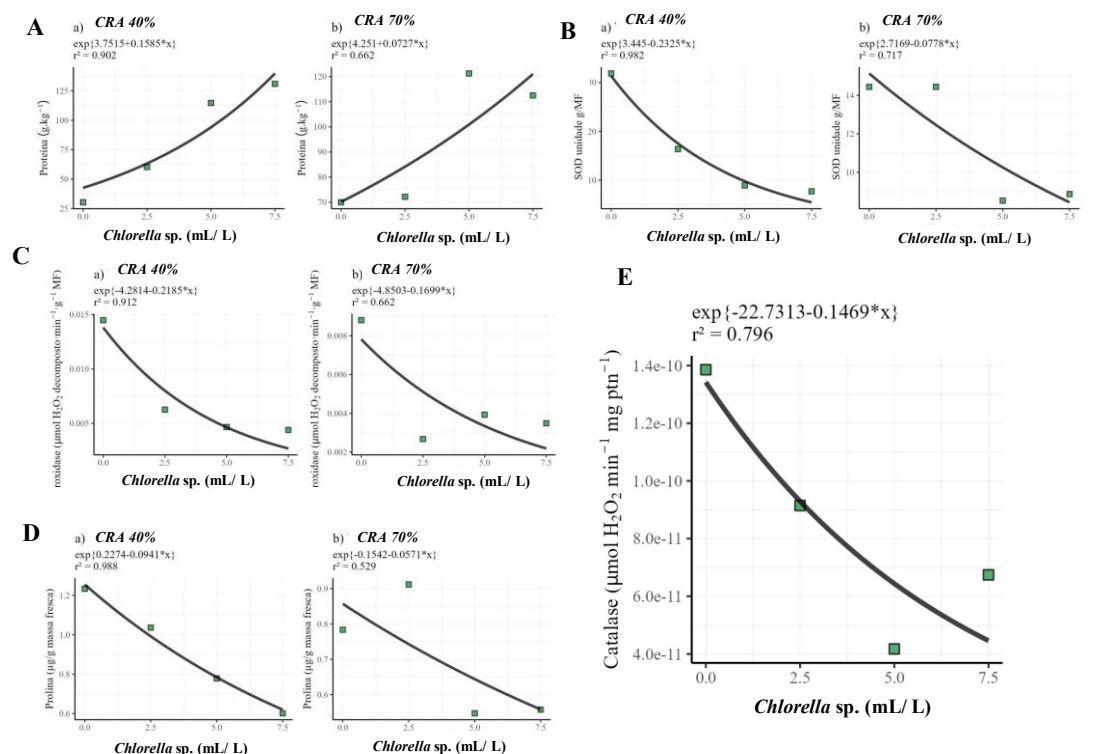
A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi superior nos tratamentos com menor dose de *Chlorella* e mais acentuada sob 40% da CRA. No entanto, a partir da dose de 5,0 mL/planta, os valores em ambas as CRA se aproximaram, demonstrando que a microalga atenuou a ativação da via antioxidante, mesmo em condição de estresse mais severo, mantendo a atividade da enzima em níveis similares aos observados sob 70% da CRA.

Para a peroxidase (POD), os tratamentos com 0 e 2,5 mL/planta apresentaram diferenças marcantes entre as CRA, com maior atividade em 40% da CRA. A partir da dose de 5,0 mL/planta, os valores convergiram, indicando que a aplicação de *Chlorella* reduziu a necessidade de resposta antioxidante nas plantas em condição hídrica limitada, igualando-as àquelas sob disponibilidade moderada.

A atividade da catalase (CAT) reduziu-se progressivamente com o aumento das doses da microalga. Como não houve separação por nível de CRA no gráfico, infere-se que a diferença foi determinada exclusivamente pela dose de *Chlorella*, indicando que o efeito antioxidante foi mediado primariamente pela microalga, e não pela disponibilidade hídrica.

O conteúdo de prolina apresentou resposta típica ao estresse hídrico nos tratamentos sem *Chlorella*, com teores mais elevados em 40% da CRA. Contudo, essa diferença foi gradualmente reduzida à medida que as doses aumentaram. Na dose de 5,0 mL/planta, os teores em ambas as CRA tornaram-se muito próximos, e na dose de 7,5 mL/planta a diferença foi minimizada, demonstrando a atuação da microalga na supressão do acúmulo de solutos osmoprotetores, o que sugere efetiva mitigação do estresse hídrico.





**Figura 0-7-**Parâmetros bioquímicos em mudas de *C. fissilis* . mantidas sob 40% e 70% da capacidade de retenção de água (CRA) e tratadas com doses crescentes de *Chlorella* sp. Em condições de fotossíntese zero A) Teor de proteínas solúveis totais; B) Atividade da superóxido dismutase (SOD); C) Peroxidase (POD); D) Prolina; E) Catalase (CAT).

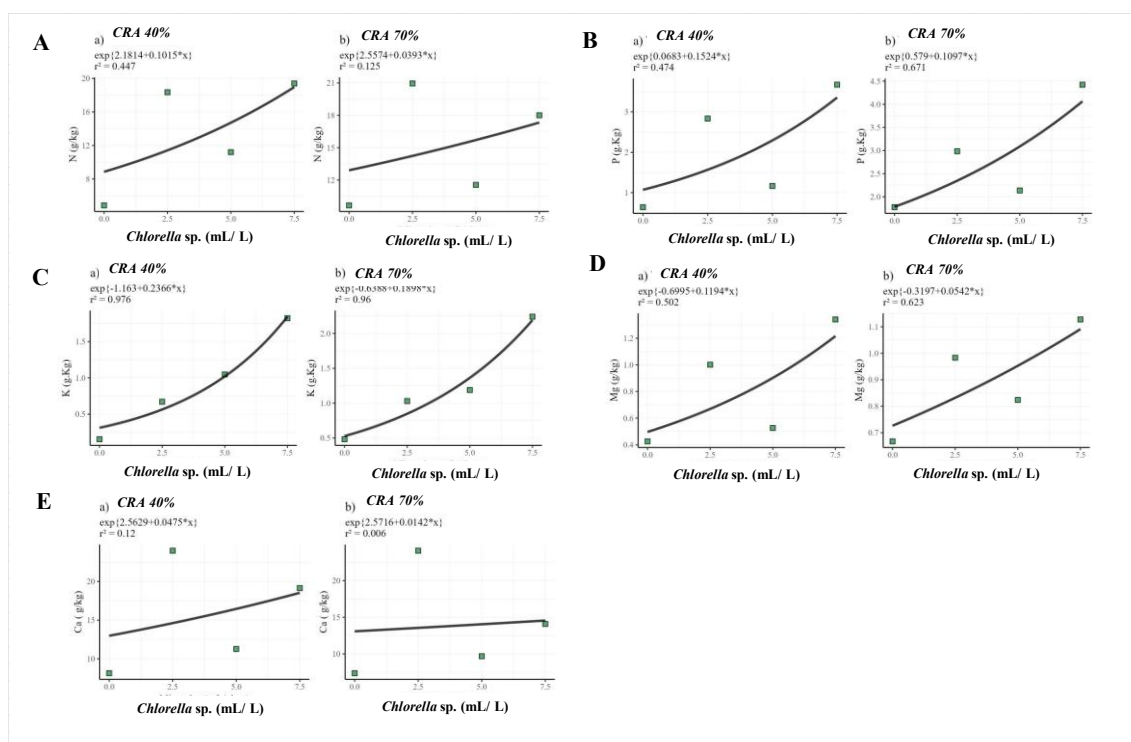
A aplicação da microalga promoveu aproximação dos valores entre as condições hídricas em doses superiores a 5,0 mL/planta, indicando potencial efeito mitigador do estresse hídrico.

A aplicação da microalga promoveu aumento gradual nos teores de P, K e Mg (figura 8) em ambas as condições hídricas, com destaque para as doses de 5,0 e 7,5 mL/planta, nas quais os valores em 40% da CRA se aproximaram daqueles observados em 70%, indicando efeito mitigador sobre a absorção de nutrientes em condição de estresse hídrico.

O teor de nitrogênio (N) aumentou com o incremento das doses de *Chlorella* sp., porém de forma moderada. Em ambas as condições hídricas, os valores foram semelhantes ao longo das doses, com leve vantagem em 70% da CRA nas doses mais altas, em que, provavelmente, a absorção de N foi influenciada mais pela condição hídrica do que pela microalga.

Para o fósforo (P), os teores aumentaram gradualmente com as doses de *Chlorella* em ambas as CRA. Na dose de 7,5 mL/planta, os valores em 40% e 70% da CRA foram bastante próximos, indicando que a aplicação da microalga contribuiu para a manutenção da absorção de P, mesmo em condição de estresse hídrico severo.

O potássio (K) respondeu positivamente ao aumento das doses em ambas as condições hídricas. A partir da dose de 5,0 mL/planta, os valores de K em 40% da CRA passaram a se igualar aos de 70%, especialmente na dose de 7,5 mL/planta, na qual os teores foram praticamente idênticos. Esse resultado evidencia que a microalga compensou as limitações impostas pela baixa umidade do solo, promovendo absorção eficiente de K mesmo sob restrição hídrica.



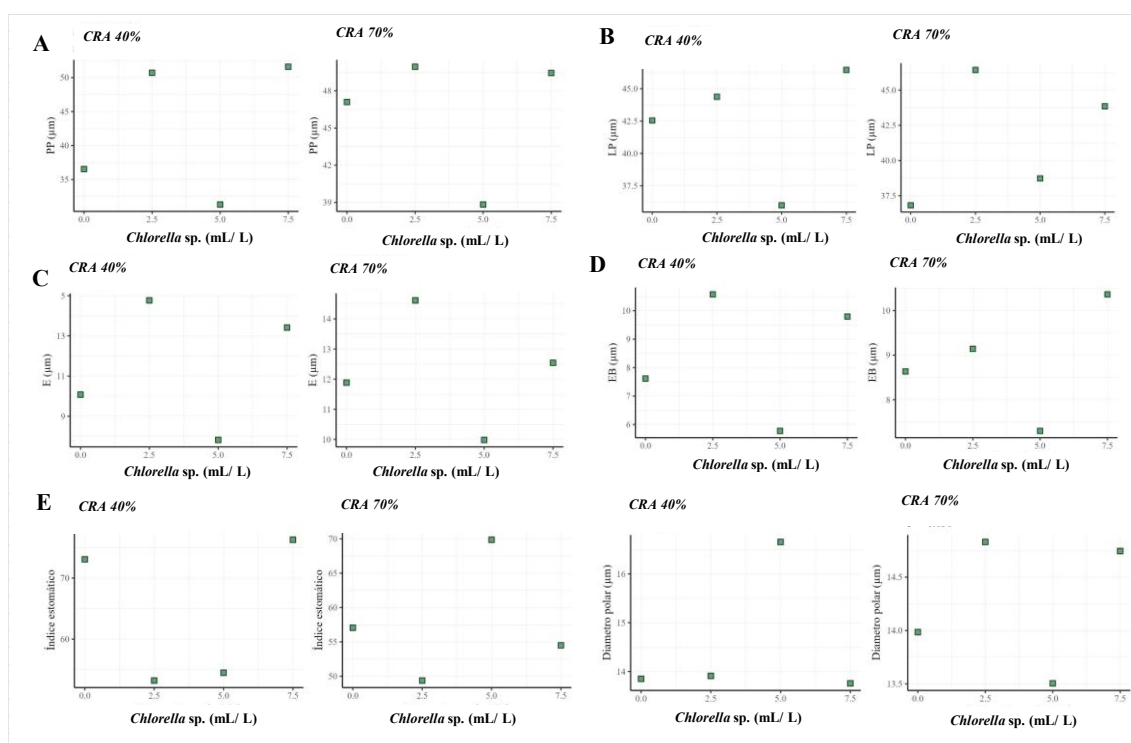
**Figura 0-8-**Teores foliares de macronutrientes em mudas de *C. fissilis* . cultivadas sob dois níveis de disponibilidade hídrica 40% e 70% da capacidade de retenção de água no solo - CRA e tratadas com doses crescentes de *Chlorella* sp. A) Nitrogênio (N); B) Fósforo(P); C) Potássio (K); D) Magnésio (Mg); E) Cálcio (Ca).

Para o magnésio (Mg), observou-se tendência semelhante: as diferenças entre os níveis de CRA foram mais evidentes nas menores doses, mas se reduziram progressivamente. Na dose de 7,5 mL/planta, os teores de Mg entre as CRA se

aproximaram consideravelmente, sugerindo efeito mitigador da *Chlorella* também sobre a absorção desse nutriente.

No caso do cálcio (Ca), os gráficos indicaram variações pouco expressivas com o aumento das doses. A ausência de padrão definido e a baixa amplitude de resposta sugerem que a absorção de Ca foi pouco influenciada tanto pela microalga quanto pela condição hídrica, com teores relativamente estáveis em todas as combinações avaliadas.

De forma geral, os parâmetros anatômicos foliares avaliados (Figura 9) não apresentaram ajuste significativo a modelos de regressão em função das doses de *Chlorella* sp., comportamento que pode estar associado à alta variabilidade estrutural característica de espécies florestais perenes. Ainda assim, observaram-se oscilações pontuais que indicam respostas diferenciadas entre as doses aplicadas, variando conforme o nível de disponibilidade hídrica. Essas respostas sugerem que, embora a suplementação com microalgas possa influenciar aspectos anatômicos, tais alterações não seguem um padrão linear ou quadrático definido, possivelmente devido à interação entre o tempo de resposta tecidual e a plasticidade morfofisiológica de *Cedrela fissilis*.



**Figura 9-**Parâmetros anatômicos foliares em mudas de *C. fissilis* cultivadas sob dois níveis de disponibilidade hídrica (40% e 70% da capacidade de retenção de água no solo CRA) e tratadas com doses crescentes de *Chlorella* sp. em condição de fotossíntese zero

A) Parênquima paliçádico (PP), B) Parênquima lacunoso (LP); C) Epiderme adaxial (E); D) Epiderme abaxial (EB); E) Índice estomático; F) Diâmetro polar dos estômatos.

Sob 40% da capacidade de retenção de água no solo (CRA), o parênquima paliçádico (Figura 9A) apresentou incremento expressivo na dose de 2,5 mL L<sup>-1</sup> de *Chlorella* sp., superando os valores do controle, seguido por redução nas doses subsequentes. Em 70% CRA, observou-se padrão semelhante, mas com valores absolutos superiores aos registrados sob déficit hídrico, evidenciando a interação positiva entre maior disponibilidade hídrica e suplementação com microalga.

A espessura do parênquima lacunoso (Figura 9B) apresentou variação pontual, sem tendência de resposta dose-dependente. Ainda assim, em média, as plantas sob 70% CRA exibiram valores mais elevados que aquelas sob 40% CRA, sugerindo que a disponibilidade hídrica exerce maior influência sobre essa variável do que a aplicação de *Chlorella* sp.

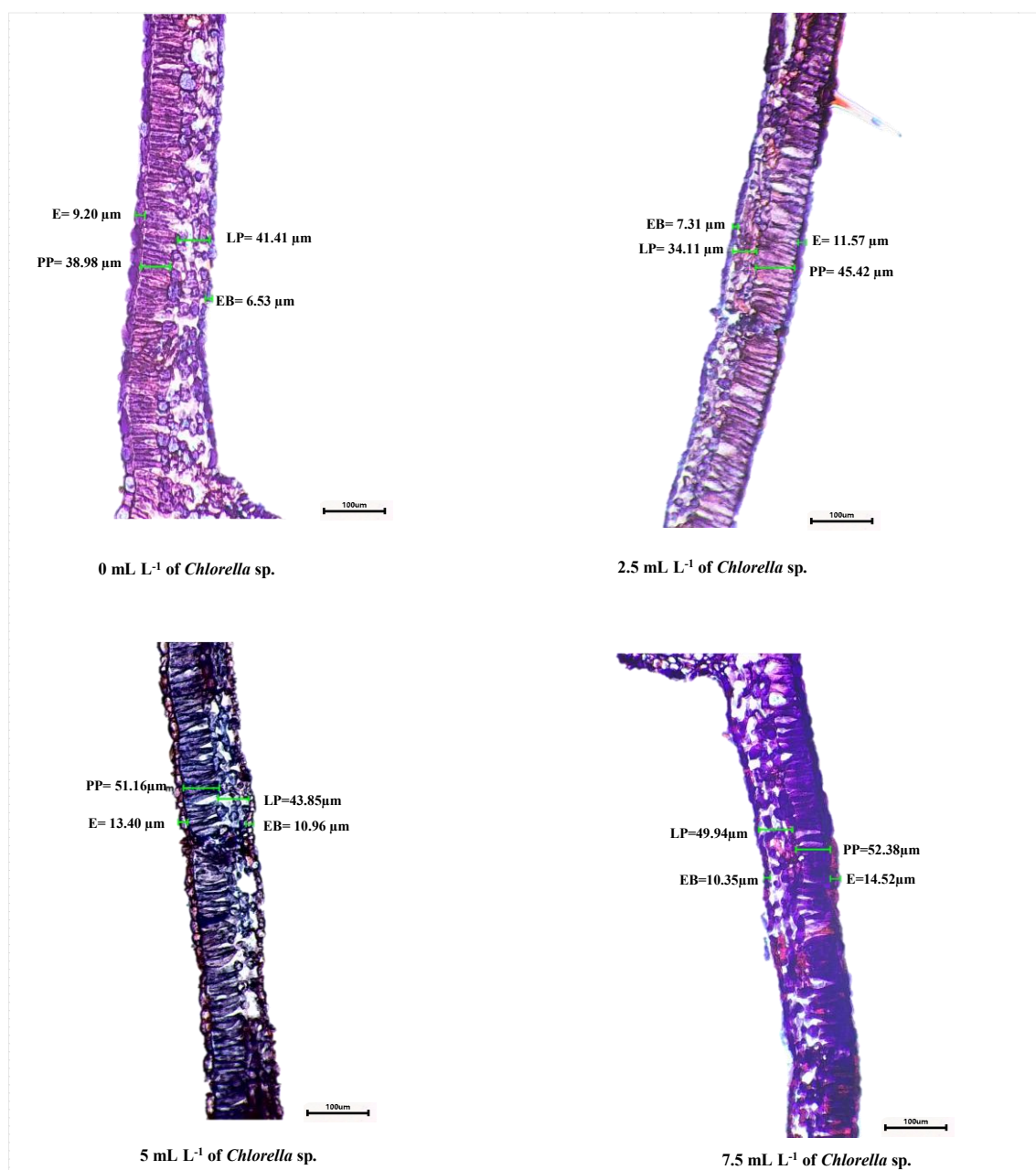
Para a epiderme adaxial (Figura 9C), sob 40% CRA, registrou-se valor máximo na dose de 2,5 mL L<sup>-1</sup>, com posterior declínio nas doses superiores. Em 70% CRA, a variação foi menos pronunciada, mantendo-se próxima aos valores do controle.

Na epiderme abaxial (Figura 9D), observou-se padrão semelhante ao da epiderme adaxial, com espessura ligeiramente superior na dose intermediária sob déficit hídrico, enquanto sob 70% CRA as diferenças entre doses foram discretas.

O índice estomático (Figura 9E) apresentou redução progressiva com o aumento da dose de *Chlorella* sp. em ambas as disponibilidades hídricas, sendo a queda mais acentuada sob 40% CRA, o que pode indicar ajuste morfofisiológico para redução da perda de água em condições de estresse.

O diâmetro polar dos estômatos (Figura 9F) manteve-se relativamente estável nas menores doses, mas apresentou incremento expressivo na dose de 7,5 mL L<sup>-1</sup>, tanto sob 40% quanto sob 70% CRA, com valores ligeiramente mais elevados nas plantas em maior disponibilidade hídrica.

A aplicação de *Chlorella* sp. promoveu alterações evidentes nas estruturas foliares visuais (Figura 10), especialmente no parênquima paliçádico (PP), parênquima lacunoso (LP), epiderme adaxial (E) e epiderme abaxial (EB). Observou-se que nas plantas controle (0 mL L<sup>-1</sup>), os tecidos apresentavam-se menos organizados e com menores espessuras, refletindo em menor investimento em tecidos fotossintetizantes e de proteção.

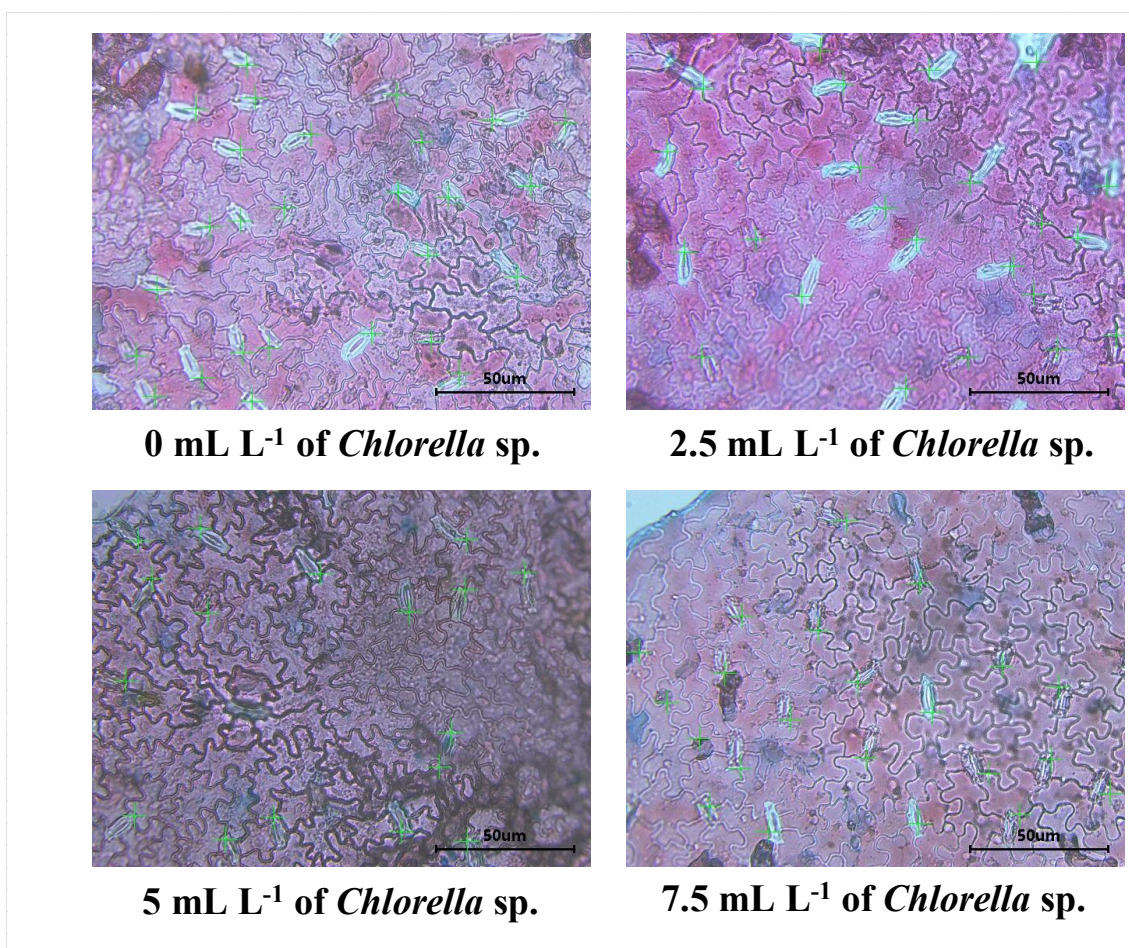


**Figura 0-10-**Corte transversal da lâmina foliar de *C. fissilis* submetida a 70% da capacidade de retenção de água (CRA), sob aplicação de diferentes doses de *Chlorella sp.*

Com a aplicação de 2,5 mL L<sup>-1</sup> de *Chlorella sp.*, houve discreto aumento da espessura dos tecidos, porém foi a dose de 5 mL L<sup>-1</sup> que resultou em estruturas foliares mais desenvolvidas, com PP e LP bem definidos e maior espessura de E e EB. Essa reorganização anatômica contribui diretamente para o aumento da eficiência fotossintética, reforçando o papel adaptativo frente ao estresse hídrico moderado (70%

CRA). A dose de 7,5 mL L<sup>-1</sup> apresentou leve regressão, com redução da espessura do parênquima paliçádico e compactação de tecidos, o que sugere possível limitação metabólica por excesso de insumos biológicos.

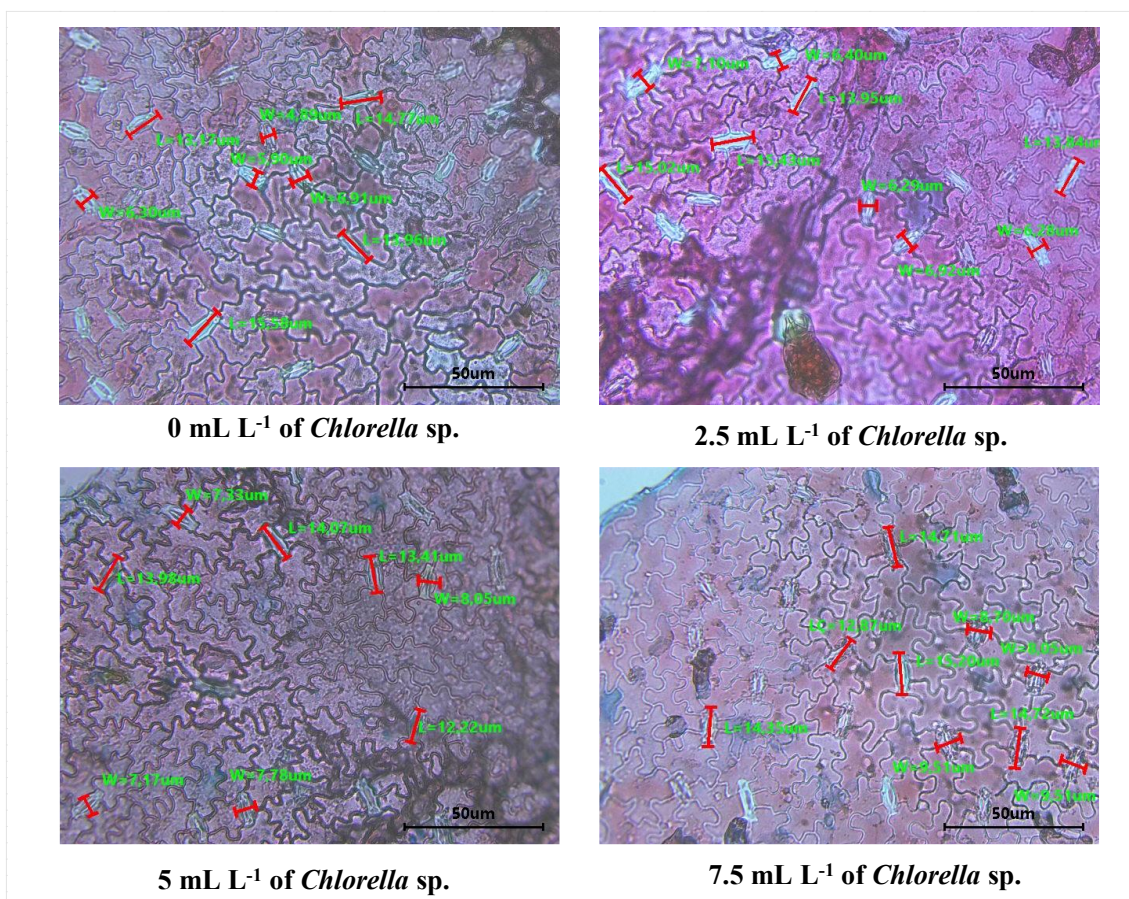
As imagens paradérmicas (Figura 11) revelam que a densidade de estômatos aumentou progressivamente com o incremento das doses de *Chlorella* sp., sendo mais evidente nas doses de 5 e 7,5 mL L<sup>-1</sup>. A maior frequência estomática observada nesses tratamentos está diretamente relacionada à capacidade das plantas em manter trocas gasosas mesmo sob estresse hídrico moderado, favorecendo maior assimilação de CO<sub>2</sub> e controle da transpiração.



**Figura 0-11**-Micrografias paradérmicas da densidade estomática da epiderme abaxial de folhas de *C. fissilis* sob 70% da CRA, em função das doses de *Chlorella* sp.

Esse aumento da densidade estomática, sem comprometimento da morfologia celular adjacente, indica um processo adaptativo e de reorganização da epiderme induzido pela aplicação da microalga.

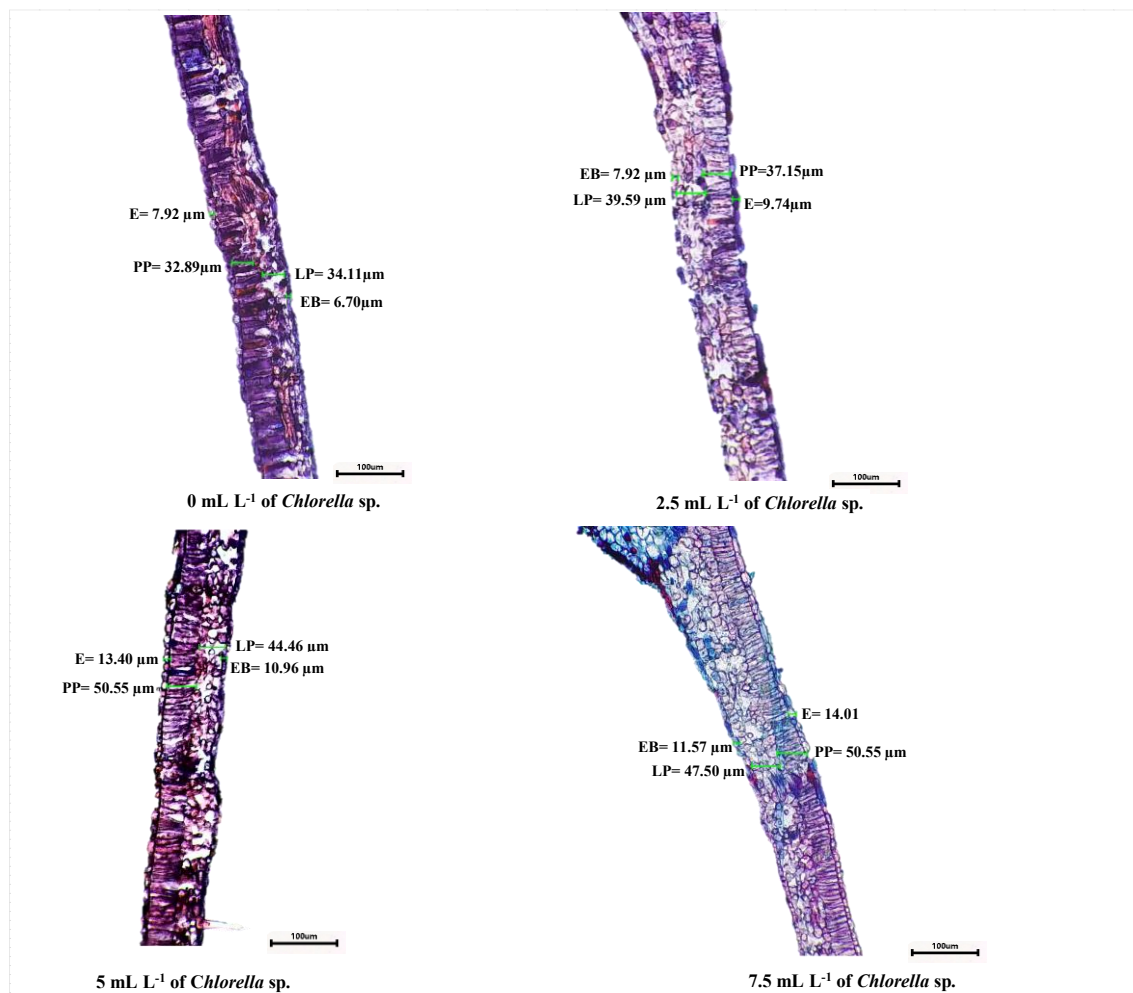
A análise morfométrica dos estômatos (Figura 12) demonstrou que o comprimento (L) e a largura (W) dos estômatos aumentaram com as doses de *Chlorella* sp., especialmente com 5 mL L<sup>-1</sup>. Essa ampliação estomática é um indicativo de melhor capacidade de abertura e fechamento dos estômatos, refletindo maior controle hídrico e eficiência no uso da água (WUE).



**Figura 0-12-**Imagens paradérmicas evidenciando as dimensões estomáticas da epiderme abaxial de *C. fissilis* sob 70% da CRA, em condição de fotossíntese zero (largura – W e comprimento – L) em função de doses crescentes de *Chlorella* sp.

Na dose de 0 mL L<sup>-1</sup>, os estômatos apresentavam-se pequenos e estreitos, sugerindo limitação fisiológica. Já na dose de 2,5 mL L<sup>-1</sup>, houve incremento moderado. A dose de 5 mL L<sup>-1</sup> promoveu os maiores valores médios de L e W, associados à manutenção da atividade fotossintética observada nos dados fisiológicos. Por fim, a dose de 7,5 mL L<sup>-1</sup> indicou estabilidade, porém sem ganhos adicionais.

A análise histológica das folhas (Figura 13) revelou alterações morfoanatômicas consistentes nas plantas tratadas com *Chlorella* sp. em comparação ao controle (0 mL L<sup>-1</sup>). A dose de 5 mL L<sup>-1</sup> promoveu evidente espessamento do parênquima paliçádico (PP) e do parênquima lacunoso (LP), indicando maior capacidade de acúmulo de células fotossintetizantes e armazenamento hídrico, aspectos cruciais sob estresse hídrico.



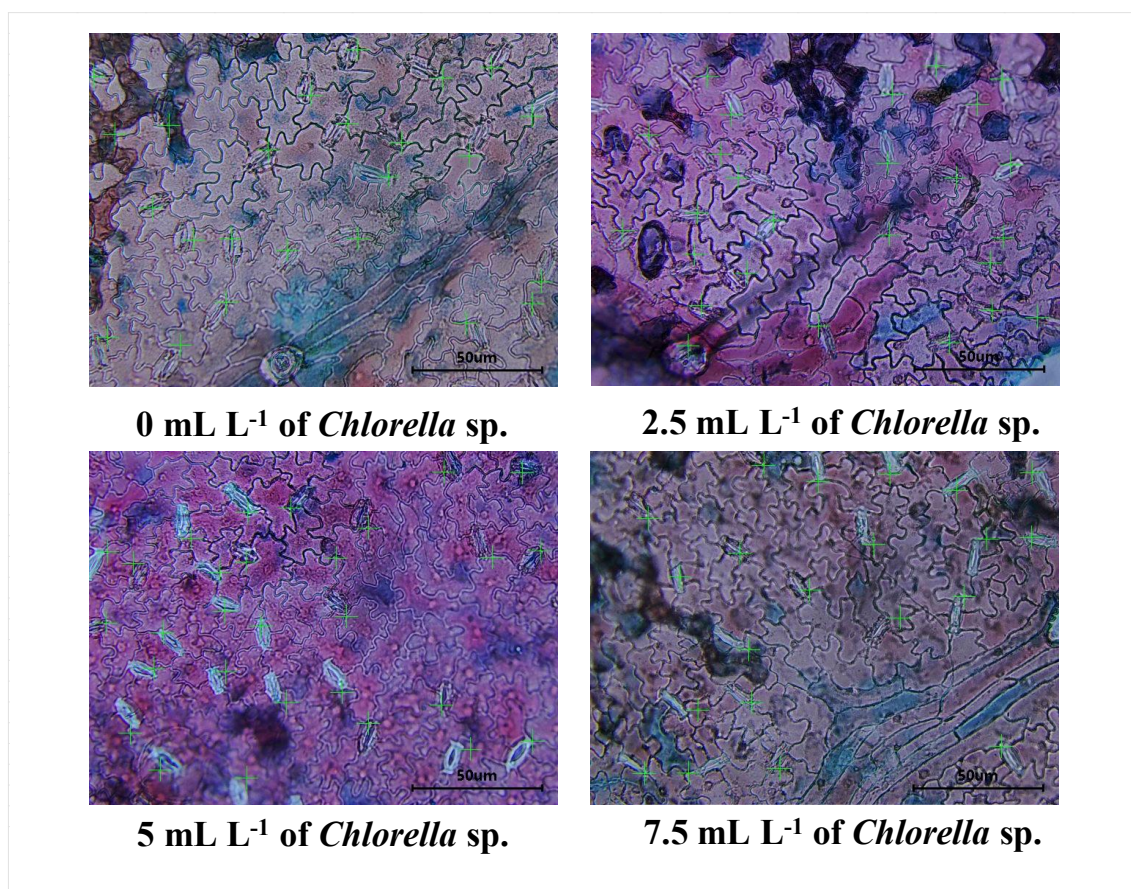
**Figura 0-13** Anatomia transversal da lâmina foliar de *C. fissilis* cultivada sob 40% da capacidade de retenção de água (CRA), evidenciando a espessura da epiderme adaxial (E), parênquima paliçádico (PP), parênquima lacunoso (LP) e epiderme abaxial (EB), em função de doses crescentes *Chlorella* sp. em condições de fotossíntese zero.

Além disso, tanto a epiderme adaxial (E) quanto a epiderme abaxial (EB) apresentaram maior espessura nas doses de 5 e 7,5 mL L<sup>-1</sup>, o que pode indicar um reforço estrutural das camadas externas, funcionando como barreira física contra a perda de água por transpiração e contribuindo para a integridade tecidual das folhas sob déficit. A



manutenção da integridade dos tecidos nos tratamentos com microalga reforça sua capacidade de mitigação anatômica frente à deficiência hídrica.

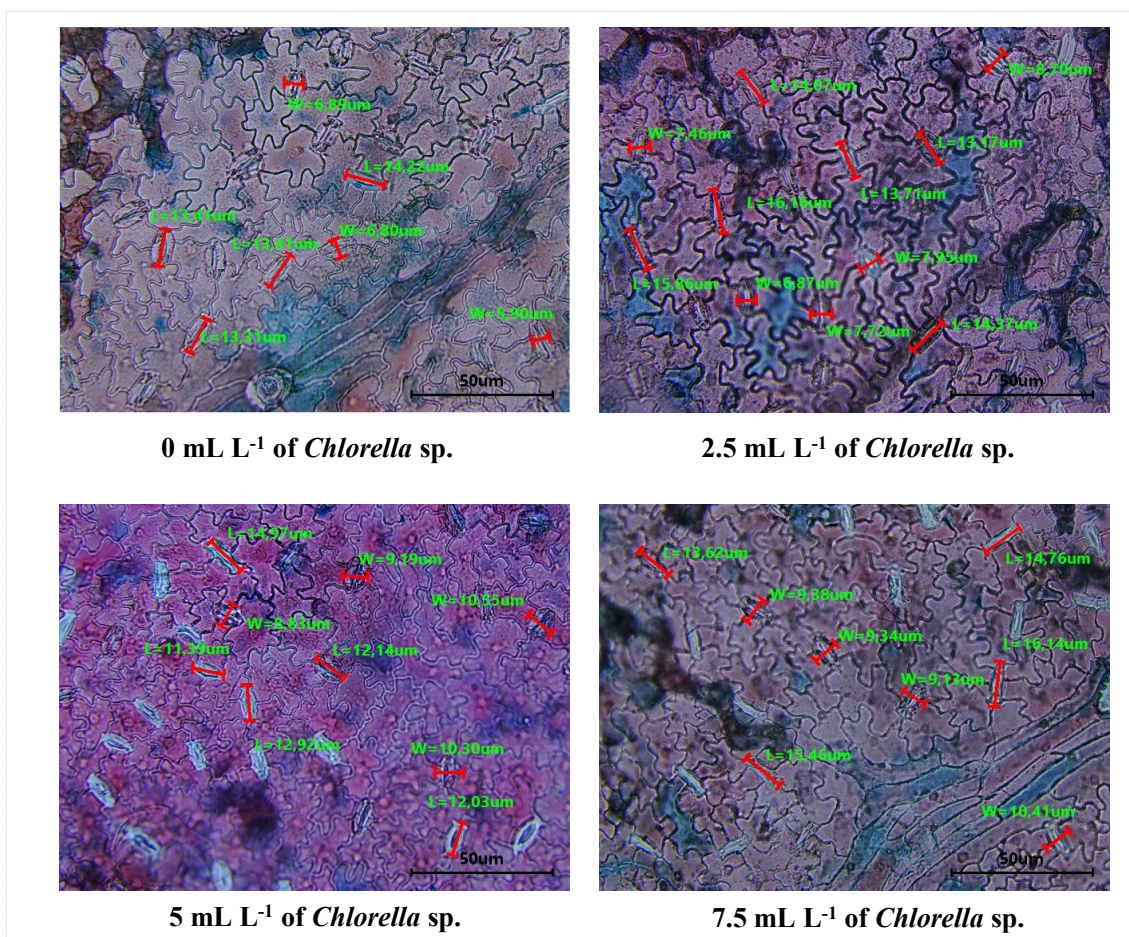
As imagens paradérmicas (Figura 14) evidenciam um aumento visual na densidade de estômatos com a aplicação crescente de *Chlorella* sp., com destaque para as doses de 2,5 e 5 mL L<sup>-1</sup>. Essa maior densidade estomática pode refletir um ajuste morfológico adaptativo das plantas tratadas com microalga, contribuindo para maior regulação das trocas gasosas mesmo sob estresse.



**Figura 0-14-**Imagens paradérmicas da epiderme abaxial de *C. fissilis* sob 40% CRA, evidenciando a densidade estomática nas diferentes doses de *Chlorella* sp. em condições de fotossíntese zero.

A maior quantidade de estômatos, especialmente distribuídos de forma uniforme na epiderme abaxial, pode indicar que as mudas estavam fisiologicamente preparadas para manter maior eficiência na fotossíntese e transpiração controlada, o que é compatível com as respostas observadas anteriormente em fotossíntese líquida (PN) e eficiência do uso da água (WUE) nos mesmos tratamentos.

As mensurações estomáticas (Figura 15) indicaram que os estômatos das plantas tratadas com 5 e 7,5 mL L<sup>-1</sup> de *Chlorella* sp. apresentaram maior comprimento (L) e largura (W), sugerindo estômatos potencialmente mais ativos e com maior capacidade de abertura. Essa modificação nas dimensões pode ser atribuída à ação de hormônios vegetais produzidos ou estimulados pela microalga, como as citocininas e o ácido abscísico, que influenciam diretamente a diferenciação e funcionalidade estomática.

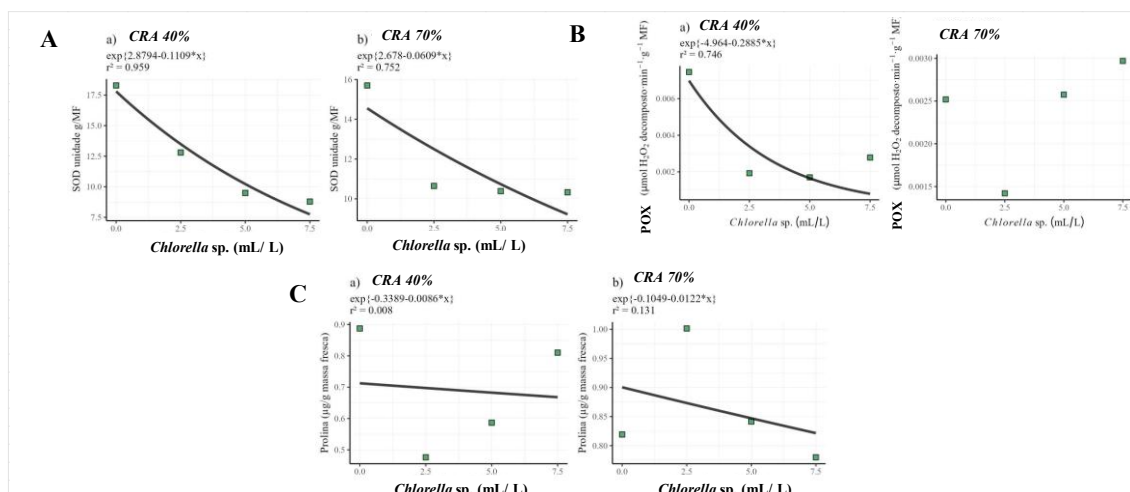


**Figura 0-15-** Medidas do comprimento (L) e largura (W) dos estômatos de *C. fissilis* sob 40% CRA em função de doses crescentes *Chlorella* sp. em condições de fotossíntese zero.

Tais alterações estruturais são compatíveis com a manutenção de alguma atividade fisiológica mesmo sob ausência de fotossíntese nas plantas-controle, reforçando a hipótese de que o tratamento com *Chlorella* sp. contribui não apenas para a plasticidade anatômica, mas também para a tolerância funcional em condições severas de estresse hídrico.

## Avaliação REC

De forma geral, a aplicação de *Chlorella* sp. influenciou de maneira distinta a atividade enzimática antioxidante e o acúmulo de prolina em *Cedrela fissilis* durante a fase de recuperação (REC) após déficit hídrico, com respostas dependentes do nível de disponibilidade de água no solo (Figura 16).



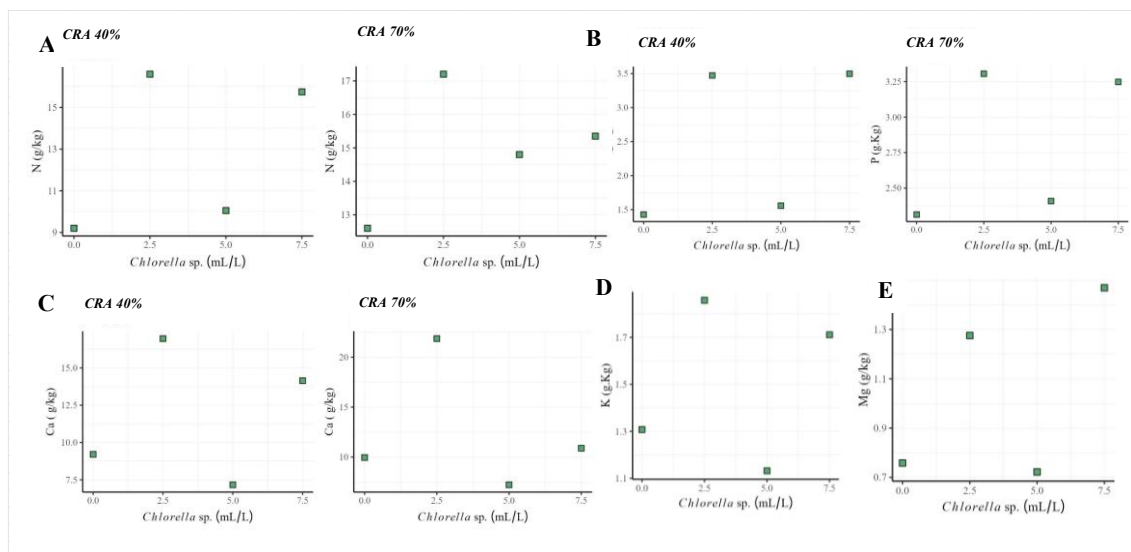
**Figura 0-16-**Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e peroxidase(POX), e acúmulo de prolina em folhas de plantas de *C. fissilis* ., em função de doses crescentes de *Chlorella* sp., sob duas condições de disponibilidade hídrica em condição de recuperação (REC).

Na atividade da superóxido dismutase (SOD – Figura 16A), observou-se redução contínua com o aumento das doses. Em 40% CRA, a dose de 7,5 mL L<sup>-1</sup> apresentou valor aproximadamente 66% inferior ao controle (0 mL L<sup>-1</sup>). Em 70% CRA, a redução entre esses mesmos tratamentos foi de cerca de 50%.

Para a peroxidase (POX – Figura 16B), em 40% CRA houve decréscimo acentuado, com a dose de 7,5 mL L<sup>-1</sup> apresentando valor cerca de 93% inferior ao controle. Em 70% CRA, não houve ajuste de regressão, mas registrou-se variação de aproximadamente 14% entre o menor e o maior valor observado.

O acúmulo de prolina (Figura 16C) apresentou, em 40% CRA, redução de cerca de 28% entre o controle e a maior dose de *Chlorella* sp. Em 70% CRA, não houve ajuste significativo de modelo, sendo verificada variação máxima de aproximadamente 12% entre os valores extremos registrados.

De modo geral, os teores foliares de macronutrientes em *Cedrela fissilis* na fase de recuperação (REC) apresentaram variações pontuais em função das doses de *Chlorella* sp., sem ajuste de modelos de regressão (Figura 17).



**Figura 0-17-**Teores foliares de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), magnésio (Mg) e cálcio (Ca) em plantas de *C. fissilis* avaliadas em função de doses crescentes de *Chlorella* sp., sob duas condições de disponibilidade hídrica em condição de recuperação.

Os teores foliares de nitrogênio (N) variaram em função das doses de *Chlorella* sp. e da disponibilidade hídrica. Na CRA de 40%, a maior concentração foi observada na dose de 7,5 mL planta<sup>-1</sup>, representando incremento de aproximadamente 55% em relação à dose controle. Na CRA de 70%, o mesmo padrão foi mantido, com aumento de cerca de 46% na dose máxima comparada ao controle.

Para o fósforo (P), na CRA de 40%, o maior valor foi registrado na dose de 2,5 mL planta<sup>-1</sup>, superando o controle em cerca de 18%. Na CRA de 70%, o pico também ocorreu na dose de 2,5 mL planta<sup>-1</sup>, com incremento de aproximadamente 14% sobre o controle.

O cálcio (Ca) apresentou comportamento similar entre as CRA avaliadas. Na CRA de 40%, a dose de 2,5 mL planta<sup>-1</sup> proporcionou aumento de cerca de 53% em relação ao controle, enquanto na CRA de 70% o incremento foi de aproximadamente 48%.

Para o potássio (K), não houve influência da disponibilidade hídrica, mas as doses de *Chlorella* sp. alteraram significativamente os teores foliares. A dose de 7,5 mL

planta<sup>-1</sup> apresentou os maiores valores, com aumento de cerca de 19% em relação ao controle.

De forma semelhante, para o magnésio (Mg) não foi verificada influência da CRA, porém as doses de *Chlorella* sp. influenciaram significativamente. A dose de 7,5 mL planta<sup>-1</sup> resultou em incremento de aproximadamente 21% em relação ao controle.

## DISCUSSÃO

### Avaliação 0

A aplicação exógena de *Chlorella* sp. em mudas de *C. fissilis* promoveu respostas integradas em diferentes níveis de organização vegetal, mesmo sob condições hídricas não limitantes, evidenciando seu potencial bioestimulante. Esses efeitos são atribuídos à complexa composição bioquímica da microalga, que inclui fitohormônios naturais (como auxinas, citocininas e giberelinas), aminoácidos, vitaminas e antioxidantes, os quais desempenham papéis fundamentais na sinalização e regulação do metabolismo vegetal (VEJAN et al., 2016; ROUPHAEL e COLLA, 2020; STIRK et al., 2020).

Do ponto de vista bioquímico, observou-se uma redução gradual nas atividades das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) com o aumento das doses de *Chlorella* sp. Esse padrão indica menor acúmulo intracelular de espécies reativas de oxigênio (ERO), sugerindo que a microalga contribui para a estabilização do estado redox celular e redução do estresse oxidativo basal (CHIAIESE et al., 2018; CALONE et al., 2021). Em contraste, a atividade da peroxidase (POD) apresentou incremento superior a 400% na dose máxima, indicando uma indução específica do sistema de defesa estrutural mediado por lignificação e reforço das paredes celulares, conforme também relatado por Kim et al. (2023) ao tratar morangueiros com *Chlorella fusca*.

Os teores foliares de proteínas totais aumentaram aproximadamente 62,5% com o uso da microalga, o que pode ser explicado pela maior disponibilidade de nitrogênio assimilável promovida pelos compostos nitrogenados presentes nas microalgas e pelo estímulo à síntese proteica (Fakhri et al., 2022). A *Chlorella* sp. é reconhecida por sua elevada capacidade de acumular e transferir nutrientes essenciais, como N, P, K e Mg, em formas biodisponíveis, o que potencializa a absorção pelas plantas e favorece processos

fisiológicos como a fotossíntese e o crescimento vegetativo (WUANG et al., 2016; GARCÍA-GONZÁLEZ e SOMMERFELD, 2016).

Do ponto de vista anatômico, a aplicação da microalga promoveu alterações estruturais significativas nas folhas, destacando-se o aumento na espessura dos tecidos fotossintéticos, como o parênquima paliçádico (PP) e o parênquima lacunoso (PL), bem como o incremento no tamanho dos estômatos e células epidérmicas. Essas modificações refletem uma reorganização funcional da lâmina foliar que otimiza a captação de luz, a difusão de CO<sub>2</sub> e o armazenamento de água nos tecidos internos (TAIZ et al., 2017).

O espessamento do mesofilo, especialmente do parênquima paliçádico, está diretamente relacionado ao aumento da densidade de cloroplastos e à maior capacidade de fotossíntese por área foliar (OGUCHI et al., 2003). Por sua vez, o aumento das câmaras lacunares no parênquima esponjoso melhora a difusão interna do CO<sub>2</sub> até os sítios de fixação no estroma, reduzindo resistências ao fluxo gasoso (EVANS et al., 2009).

A ação da *Chlorella* sp. como bioestimulante está diretamente associada à indução de processos metabólicos antecipatórios, caracterizados pelo chamado *priming* fisiológico, no qual há ativação parcial e sustentada de vias de resposta a estresses, mesmo antes da ocorrência do estressor (ROUPHAEL e COLLA, 2020). Este preparo metabólico resulta em plantas mais eficientes na resposta futura a condições adversas, promovendo maior resiliência fisiológica e anatômica. No presente estudo, a ausência de estresse hídrico permitiu observar efeitos puramente atribuídos à bioestimulação basal, sem confusão com respostas adaptativas secundárias, o que reforça a robustez dos efeitos promovidos pela microalga.

Assim, os resultados obtidos confirmam que a aplicação de *Chlorella* sp. em *C. fissilis* atua simultaneamente na modulação do metabolismo antioxidante, no enriquecimento nutricional e na reconfiguração anatômica das folhas, compondo um quadro fisiológico mais eficiente e resiliente. Esses efeitos integrados demonstram o potencial do uso de microalgas na silvicultura tropical como uma estratégia sustentável para a produção de mudas vigorosas, especialmente em cenários de manejo adaptativo frente à variabilidade climática (CALONE et al., 2021; CHIAIESE et al., 2018; WUANG et al., 2016)

No corte transversal das folhas, observou-se que a dose de 5 mL L<sup>-1</sup> de *Chlorella* sp. proporcionou os maiores valores de espessura da epiderme adaxial (E), parênquima paliçádico (PP), parênquima lacunoso (LP) e epiderme abaxial (EB), quando comparada

ao controle e às demais doses. Essas características anatômicas são fundamentais para o desempenho fotossintético, uma vez que tecidos mais espessos, especialmente o parênquima paliçádico, estão diretamente associados à maior capacidade de captação de luz e à eficiência na assimilação de CO<sub>2</sub> (TAIZ et al., 2017). A expansão dos tecidos foliares também reflete um melhor estado nutricional e funcional das plantas, favorecido provavelmente pela ação bioestimulante da microalga, rica em aminoácidos, fitormônios, vitaminas, e pigmentos fotossintéticos (CHENG et al., 2022).

Em relação às características epidérmicas observadas nas pranchas paradérmicas, houve um aumento visível na densidade estomática nas doses de 5 e 7,5 mL L<sup>-1</sup>, com maior regularidade e distribuição uniforme dos estômatos, em contraste com a menor concentração e maior irregularidade no controle. Esse padrão é relevante, pois uma maior densidade estomática pode favorecer as trocas gasosas sob condições hídricas favoráveis e permitir mecanismos mais eficazes de fechamento estomático sob déficit hídrico, melhorando a tolerância ao estresse (HE et al., 2020).

As medidas estomáticas reforçam esses achados. As doses de 5 e 7,5 mL L<sup>-1</sup> resultaram em estômatos com maior comprimento (L) e largura (W), indicando estruturas mais desenvolvidas e funcionais. A expansão dessas estruturas pode estar associada a maior capacidade de abertura estomática e controle da transpiração, otimizando a eficiência no uso da água (WUE) (LIMA et al., 2021). Essa resposta anatômica precoce é um indicativo promissor de que a aplicação de *Chlorella* sp. pode conferir vantagens adaptativas às mudas ainda em fase de viveiro.

Portanto, os resultados obtidos na fase inicial evidenciam que o bioinsumo à base de *Chlorella* sp., especialmente na dose de 5 mL L<sup>-1</sup>, promove modificações estruturais benéficas nas folhas, com reflexos positivos sobre a fisiologia e o potencial de adaptação das mudas ao campo. Essas alterações são estratégicas para programas de restauração ecológica e reflorestamento em ambientes degradados, especialmente em regiões sujeitas à limitação hídrica.

### **Avaliação F0**

A aplicação de *Chlorella* sp. promoveu efeitos expressivos sobre a fisiologia, bioquímica e morfoanatomia foliar de mudas de *C. fissilis* mantidas sob déficit hídrico, revelando mecanismos complexos e interdependentes de mitigação do estresse, mediados por compostos bioativos característicos do extrato dessa microalga. Os efeitos observados

estão diretamente relacionados à composição da biomassa da *Chlorella*, que contém uma diversidade de metabólitos funcionais, incluindo antioxidantes naturais, aminoácidos essenciais, polissacarídeos, fitohormônios e ácidos orgânicos, com atuação reconhecida na modulação de respostas vegetais frente a condições adversas.

A redução significativa na atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POD) e catalase (CAT) nas doses mais elevadas de *Chlorella* não deve ser interpretada como supressão da defesa, mas sim como reflexo da menor geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) nas plantas tratadas. Essa redução pode ser explicada pela abundância de antioxidantes não enzimáticos presentes na microalga, como carotenoides, ácidos fenólicos, ficobilinas, tocoferóis e glutathione, os quais atuam diretamente na neutralização de radicais livres (SAFONOVA et al., 2020).

Tais compostos desempenham papel central na manutenção do equilíbrio redox celular, reduzindo a necessidade de ativação das vias enzimáticas clássicas de desintoxicação, como descrito por Moon et al. (2024) em *Arabidopsis thaliana* e corroborado por Gao et al. (2021) ao analisar o papel da glutathione reduzida em microalgas. Esse mesmo padrão bioquímico foi observado por Kusvuran (2021) em brócolis sob estresse hídrico, em que a atividade antioxidante enzimática decresceu progressivamente à medida que a concentração de *Chlorella vulgaris* aumentava.

Em paralelo, a redução nos teores de prolina nas doses mais elevadas é indicativa de menor acúmulo osmoprotetor, sugerindo que as plantas tratadas com *Chlorella* não sofreram alterações osmóticas severas, mesmo sob 40% da CRA. A prolina, como relatado por Szabados e Savouré (2010), acumula-se em ambientes de baixa disponibilidade hídrica, promovendo estabilização de proteínas e membranas. Sua redução aqui é atribuída a um efeito direto dos polissacarídeos extracelulares produzidos por *Chlorella* sp., os quais melhoram a capacidade de retenção de água na rizosfera e reforçam a integridade celular (LI et al., 2019). Além disso, estudos apontam que a microalga estimula a biossíntese de fitohormônios como ácido abscísico (ABA), citocininas e auxinas, que estão envolvidos na regulação estomática e na tolerância à dessecação, o que contribui para o menor estímulo de rotas de osmorregulação endógena (MOON et al., 2024).

A elevação nos teores de proteínas solúveis observada nas maiores doses de *Chlorella* está diretamente relacionada ao fornecimento exógeno de aminoácidos livres, como arginina, lisina e glutamina, abundantes na biomassa do extrato de algas (Kim et



al., 2020). Esses aminoácidos são facilmente absorvidos e utilizados na síntese de proteínas funcionais, mesmo sob condições de estresse.

A presença de peptídeos bioativos na *Chlorella* também estimula vias de tradução e expressão gênica ligadas ao metabolismo primário, como demonstrado por Wang et al. (2023), que justifica a preservação da atividade proteica nas plantas sob estresse hídrico moderado a severo. Esse efeito é particularmente relevante em ambientes de seca prolongada, onde a síntese proteica é normalmente suprimida em decorrência do comprometimento energético e osmótico.

A melhora observada na absorção e acúmulo foliar de fósforo, potássio e magnésio nas plantas tratadas com doses de 5,0 e 7,5 mL/planta de *Chlorella* em 40% da CRA confirma a capacidade da microalga em atuar como agente biofertilizante. Estudos mostram que *Chlorella* libera ácidos orgânicos de baixo peso molecular, como cítrico e málico, que solubilizam formas insolúveis de fósforo e outros nutrientes no solo (ZHOU et al., 2022). Adicionalmente, os sideróforos produzidos por microalgas funcionam como quelantes naturais, aumentando a biodisponibilidade de cátions como  $K^+$  e  $Mg^{2+}$ . Também se verificou, em experimentos conduzidos por HALPERN et al., (2015), que a aplicação de bioestimulantes com microalgas eleva a expressão de transportadores de íons e ATPases de membrana, otimizando a absorção de nutrientes mesmo em condições de baixa atividade hídrica. Isso justifica os valores nutricionais similares entre plantas sob 40% e 70% da CRA observados neste estudo.

Os efeitos anatômicos também demonstraram a ação protetora da *Chlorella* frente ao estresse hídrico. A manutenção da espessura do parênquima paliçádico e lacunoso, bem como das epidermes adaxial e abaxial, nas doses mais elevadas da microalga, indica preservação da arquitetura foliar, fundamental para os processos de difusão de gases e captação de luz. Essa estabilidade estrutural é atribuída à presença de fitocolinas e betaminas em *Chlorella*, que estabilizam membranas plasmáticas e tonoplastos, além de carotenóides com função fotoprotetora e antioxidante (Safonova et al., 2020). RENGANATHAN et al. (2024) destacam ainda que, compostos da microalga induzem o aumento da atividade de enzimas como celulose sintase e peroxidase de lignina, promovendo resistência anatômica ao colapso hídrico.

Por fim, o fato de a densidade e o diâmetro estomático terem sido preservados nas plantas tratadas com as maiores doses de *Chlorella*, mesmo sob 40% da CRA, reforça a hipótese de que a microalga atua sobre a regulação do desenvolvimento estomático,

provavelmente via estímulo à biossíntese de citocininas e giberelinas. Tais hormônios são reconhecidos por manterem a divisão celular e diferenciação de estômatos mesmo sob condições ambientais adversas (MOON et al., 2024). Essa preservação da estrutura estomática garante a continuidade das trocas gasosas e da fotossíntese residual, representando um diferencial fisiológico importante na sobrevivência e desempenho de espécies florestais sob efeitos climáticos adversos (seca).

Assim, os resultados desta pesquisa demonstram que a aplicação de *Chlorella* sp. atua de forma multifatorial sobre a planta, ativando mecanismos bioquímicos, estruturais e nutricionais comprovadamente associados à mitigação do estresse hídrico, com suporte robusto da literatura científica contemporânea. O uso desta microalga em sistemas de produção e restauração florestal representa uma alternativa ecologicamente segura e funcional para aumentar a resiliência de espécies nativas frente às crescentes irregularidades climáticas.

A aplicação de *Chlorella* sp. promoveu alterações anatômicas significativas nas folhas de *C. fissilis* submetidas à deficiência hídrica severa (40% da capacidade de retenção de água), destacando-se como uma estratégia promissora para a mitigação dos efeitos do estresse abiótico em mudas destinadas à revegetação de ambientes degradados.

As análises histológicas demonstraram que, mesmo sob condições em que as plantas-controle cessaram a atividade fotossintética (fotossíntese = 0), as plantas tratadas com 5 mL planta<sup>-1</sup> de *Chlorella* sp. mantiveram a integridade dos tecidos foliares, com espessamento do parênquima paliádico (PP) e lacunoso (LP), bem como da epiderme adaxial (E) e abaxial (EB). Essas estruturas desempenham papel fundamental na conservação hídrica e na proteção contra a desidratação, sendo amplamente associadas à tolerância estrutural ao estresse hídrico (RABHI et al., 2023; GUO et al., 2021).

A maior espessura do PP nas doses intermediárias de microalga indica incremento no aparato fotossintético e armazenamento interno de água, o que potencializa a capacidade das plantas em manter funções metabólicas, mesmo diante da limitação hídrica severa. Essa resposta anatômica está alinhada ao que foi relatado por RONGA et al. (2019), que observaram aumento na espessura foliar e da área fotossintética em plantas de tomate tratadas com bioinsumos provenientes de microalgas.

Adicionalmente, foi verificado aumento expressivo na densidade estomática nas plantas tratadas com 2,5 e 5 mL planta<sup>-1</sup> de *Chlorella* sp., em comparação ao controle. Tal resposta estomática é interpretada como um mecanismo compensatório, no qual a maior

quantidade de estômatos viabiliza melhor controle da abertura e fechamento, otimizando as trocas gasosas sob limitação hídrica. Segundo RAJABI DEHNAVI et al. (2023), bioestimulantes composto por microalga atuam sobre a via de sinalização hormonal, especialmente via ácido abscísico e citocininas, promovendo diferenciação estomática e plasticidade morfológica adaptativa.

Quanto às dimensões dos estômatos, foi evidenciado que as doses de 5 e 7,5 mL planta<sup>-1</sup> proporcionaram estômatos com maior comprimento (L) e abertura (W), indicando maior funcionalidade mesmo sob déficit hídrico. Essa característica é fundamental para plantas inseridas em áreas degradadas e suscetíveis à irregularidade hídrica, pois permite ajustes rápidos na transpiração e na assimilação de CO<sub>2</sub>. Estudos recentes indicam que a aplicação de *Chlorella vulgaris* estimula genes relacionados à regulação estomática, além de promover aumento da síntese de enzimas antioxidantes como superóxido dismutase (SOD) e peroxidase (POD), que mantêm a integridade das células sob estresse (DINARDA et al., 2023; HASHEMI et al., 2022).

A importância dessas respostas é especialmente relevante em um cenário de mudanças climáticas, no qual áreas degradadas demandam estratégias de revegetação com espécies nativas adaptadas a condições severas. A utilização de bioinsumos alternativos, como a *Chlorella* sp., na fase de produção de mudas, pode representar um diferencial no sucesso da restauração ecológica, reduzindo a mortalidade inicial no campo e conferindo maior robustez às plantas implantadas. Assim, os resultados anatômicos apresentados reforçam o papel da microalga como agente indutor de plasticidade funcional e estrutural, fortalecendo as defesas naturais das mudas contra o déficit hídrico e contribuindo para o restabelecimento da vegetação nativa em áreas críticas

### **Avaliação REC**

A aplicação de *Chlorella* sp. demonstrou efeitos residuais sobre o metabolismo bioquímico de *C. fissilis*, mesmo após o restabelecimento das condições hídricas. Essa persistência dos efeitos sugere que a microalga promoveu alterações duradouras na fisiologia da planta, por meio de mecanismos de *priming* metabólico e ativação prolongada de vias antioxidantes, fenômeno já descrito em espécies agrícolas tratadas com microalgas (RENUKA et al., 2018; ROUPHAEL e COLLA, 2020).

As atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD) e peroxidase (POD) permaneceram reduzidas nas plantas tratadas, mesmo após o término do estresse hídrico,

em comparação ao grupo controle. Essa diminuição sustentada da atividade antioxidante sugere que o sistema redox das plantas foi mantido em equilíbrio, com menor acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ERO). Segundo Zulfiqar et al. (2020), baixos níveis de SOD e POD, após eventos de estresse, indicam uma recuperação eficiente da homeostase celular e uma menor necessidade de resposta enzimática intensiva.

A ação prolongada da microalga observada pode ser atribuída à presença de metabólitos bioativos na biomassa de *Chlorella* sp., como carotenoides, compostos fenólicos e vitaminas hidrossolúveis, que atuam como cofatores na neutralização de ERO e na modulação da sinalização antioxidante em plantas (GAO et al., 2021; SAFONOVA et al., 2020). Esses compostos têm sido amplamente reconhecidos pela literatura como indutores de respostas metabólicas duráveis, promovendo tolerância prolongada a estresses abióticos em diferentes espécies vegetais (SIBI, 2020; VEJAN et al., 2016).

A manutenção de baixos níveis de prolina nas plantas tratadas com doses mais elevadas da microalga reforça a ideia de que o balanço osmótico foi restaurado de forma mais eficiente. A prolina, um aminoácido osmoprotetor, geralmente se acumula em situações de estresse; sua redução após a reidratação, especialmente nas plantas tratadas com 7,5 mL/planta, sugere um efeito modulador da *Chlorella* sobre vias de sinalização osmótica e homeostase celular (Szabados e Savouré, 2010). Essa ação pode ser parcialmente atribuída ao conteúdo de aminoácidos livres e polissacarídeos extracelulares da microalga, que atuam sobre o metabolismo celular e a integridade das membranas (LI et al., 2019).

Nos aspectos nutricionais, embora existam evidências crescentes sobre os benefícios de microalgas na agricultura, ainda são escassos os estudos que abordam especificamente os efeitos da aplicação de *Chlorella* sp. sobre a dinâmica de absorção e redistribuição de nutrientes em espécies florestais sob estresse hídrico. Os dados obtidos indicaram efeitos residuais significativos da aplicação de *Chlorella* sobre o acúmulo foliar de nitrogênio e fósforo, os quais aumentaram proporcionalmente às doses aplicadas, mesmo após o reestabelecimento da irrigação

Este comportamento sugere que o bioinsumo favoreceu tanto a mobilização tardia de nutrientes no solo quanto a indução de mecanismos fisiológicos associados à absorção, como a ativação de transportadores de membrana, conforme discutido por Halpern et al., 2015) e Zhou et al. (2022). Gonçalves et al. (2023) também relataram incremento na eficiência nutricional de plantas submetidas à fertilização com *Chlorella*

*vulgaris*, mesmo sob condições limitantes. Além disso, os exsudatos produzidos por microalgas têm sido associados à maior solubilização de nutrientes e à modulação positiva da rizosfera, promovendo interações edáficas favoráveis à absorção de elementos essenciais (RENGANATHAN et al., 2024). Esses mecanismos contribuem para uma nutrição vegetal mais eficiente e sustentada em condições de déficit hídrico.

Para o potássio, magnésio e cálcio, os resultados foram mais tênues, embora ainda seja possível identificar tendências positivas com o uso da microalga. A estabilidade nos teores desses nutrientes pode ser interpretada como manutenção funcional da absorção e translocação, mesmo após o estresse. Segundo Kusvuran e Can (2020), *Chlorella vulgaris* atua também na proteção das proteínas de membrana e no equilíbrio iônico, o que favorece o transporte ativo de cátions como  $Mg^{2+}$  e  $Ca^{2+}$ , essenciais para o funcionamento estomático e estabilidade estrutural da planta.

O efeito residual observado sugere que *Chlorella* não apenas mitiga os impactos imediatos do estresse hídrico, mas atua de forma prolongada no fortalecimento metabólico e funcional das plantas, preparando-as para responder com maior eficiência ao reestabelecimento da irrigação. Essa característica é extremamente desejável em sistemas agroflorestais e em viveiros de espécies nativas tropicais, onde o retorno à normalidade hídrica pode não eliminar totalmente os impactos fisiológicos do déficit anterior.

A capacidade da microalga de manter a homeostase redox, apoiar o reequilíbrio osmótico e prolongar os benefícios nutricionais reforça seu potencial como biorregulador e bioestimulante em estratégias de manejo sustentável da produção florestal. Esses resultados corroboram os achados de Moon et al. (2024), que identificaram efeitos prolongados da aplicação de *Chlorella vulgaris* sobre a tolerância e recuperação pós-estresse em *Arabidopsis thaliana*, inclusive com expressão diferencial de genes ligados à resposta ao estresse.

Diante dos resultados obtidos, constatou-se que a aplicação de *Chlorella* sp. em mudas de *Cedrela fissilis* promoveu efeitos residuais expressivos, evidenciando a capacidade da microalga de induzir respostas fisiológicas, bioquímicas e nutricionais duradouras, mesmo após o restabelecimento das condições hídricas. A persistência da modulação de enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase (SOD) e a peroxidase (POD), associada à manutenção de baixos níveis de prolina, e o incremento nos teores foliares de nitrogênio e fósforo, revelam um aprimoramento da homeostase redox, do

equilíbrio osmótico e da eficiência nutricional. Tais respostas sugerem a ocorrência de mecanismos de *priming* metabólico induzidos por metabólitos bioativos presentes na biomassa de *Chlorella* sp., os quais atuam de forma prolongada sobre vias sinalizadoras relacionadas à tolerância ao estresse abiótico.

Nesse contexto, a microalga demonstra potencial como agente biorregulador de respostas adaptativas, favorecendo o restabelecimento fisiológico das plantas em condições de reidratação, por meio da manutenção funcional de sistemas de defesa e absorção de nutrientes. Essas observações fornecem informações relevantes para a produção de mudas florestais, e para a implantação de sistemas agroflorestais sustentáveis, pois eventos intermitentes de déficit hídrico são recorrentes e a recuperação pós-estresse é fator determinante para o sucesso da implantação e sobrevivência na área.

Assim, os resultados aqui apresentados reforçam a viabilidade do uso de *Chlorella* sp. como bioinsumo promissor em programas de manejo sustentável e revegetação com espécies nativas tropicais, reforçando as evidências já relatadas na literatura quanto à eficácia de microalgas na indução de resistência prolongada e na reprogramação metabólica de espécies vegetais expostas a estresses ambientais.

Os resultados obtidos indicam que a aplicação foliar de *Chlorella* sp. representa uma tecnologia promissora e de baixo impacto ambiental para a produção de mudas florestais resilientes ao estresse hídrico. A eficácia prolongada, aliada à multifuncionalidade bioestimulante, anatômica e nutricional, favorece sua adoção em programas de restauração ecológica, reflorestamento com espécies nativas e implantação de sistemas agroflorestais sustentáveis.

Embora este estudo tenha sido conduzido em ambiente controlado, as respostas observadas são diretamente transponíveis ao campo, principalmente em áreas sujeitas a déficit hídrico sazonal. O desenvolvimento de formulações comerciais à base de microalgas, com foco em espécies nativas ameaçadas como *Cedrela fissilis*, pode representar uma nova fronteira para o mercado de bioinsumos florestais, especialmente diante do avanço de políticas públicas voltadas à bioeconomia e ao manejo adaptativo frente às mudanças climáticas.

## CONCLUSÃO

- Ajustes anatômicos foliares indicam adaptação morfofisiológica precoce: A aplicação de *Chlorella* sp. favoreceu o espessamento significativo dos tecidos foliares (E, EB, PP, PL), especialmente na dose de 7,5 mL planta<sup>-1</sup>, indicando maior desenvolvimento estrutural e provável incremento na capacidade fotossintética e na proteção contra desidratação.
- As diferentes concentrações da microalga resultaram em absorção diferenciada de nutrientes essenciais. A dose de 5 mL planta<sup>-1</sup> promoveu maior acúmulo de N, P e Mg, enquanto a dose de 2,5 mL planta<sup>-1</sup> foi mais eficiente na absorção de K e Ca, sugerindo que *Chlorella* sp. pode atuar de forma seletiva na dinâmica nutricional.
- A dose de 7,5 mL planta<sup>-1</sup> elevou as atividades das enzimas SOD e POD, além de estimular o acúmulo de prolina, marcador clássico de resposta ao estresse hídrico. Esses achados confirmam a ação da microalga na indução da tolerância ao estresse oxidativo.
- Mesmo após a retomada das condições hídricas adequadas, as mudas previamente tratadas com 7,5 mL planta<sup>-1</sup> mantiveram elevados níveis de enzimas antioxidantes e prolina, demonstrando efeito prolongado da bioestimulação sobre a homeostase celular.
- Os resultados indicam que *Chlorella* sp. pode ser incorporada como insumo bioativo em protocolos de produção de mudas florestais, promovendo ganhos em vigor, qualidade morfofisiológica e resiliência ao estresse hídrico, com aplicabilidade direta em sistemas silviculturais voltados à restauração e conservação dos ecossistemas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CALONE, R., SALEH, O., BOSCAIU, M., DONAT-TORRES, M. P., VICENTE, O. Biostimulant activity of microalgal extracts in plants: The role of bioactive compounds. **Environmental and Experimental Botany**, v. 187, p.104478, 2021.

CHENG, Y.; DENG, L.; ZHANG, R.; LIU, F.; CAO, W.; WANG, Y.; LUO, S. The potential of microalgae-derived bioactive compounds in agriculture. **Algal Research**, Amsterdam, v. 61, p. 102594, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102594>.

CHIAIESE, P., CORRADO, G., COLLA, G., KYRIACOU, M. C., ROUPHAEL, Y. Renewable sources of plant biostimulation: Microalgae as innovative tools in agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v.9, p.1782, 2018.

COVRE, J. L.; MOREIRA, A.; SILVA, D. M.; OLIVEIRA, F. S.; SANTOS, W. M.; KLEIN, L. G. Avaliação da capacidade de fitoextração de metais pesados pela espécie *C. fissilis* . em solo contaminado. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais**, São Paulo, v. 55, p. 36–48, 2020.

DINARDA, L.; MANETTI, M.; VENTURI, F.; D'ANDREA, S.; TANGANELLI, P.; GIORGINI, F.; FANTONI, G. P.; NATIVI, S. Foliar application of microalgae improves tolerance to water deficit in young walnut plants. **Horticulturae**, Basel, v. 9, n. 4, p. 497, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/horticulturae9040497>.

DINESHKUMAR, R.; NIRMALA, M.; GEETHA, R.; ARUN, A.; DURAIRAJ, P.; GOWTHAMI, R. Evaluating the plant growth promoting ability of thermotolerant bacteria and cyanobacteria and their interactions with seed spice crops. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 164, p. 94–101, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.09.014>.

FAKHRI, H., DEHNAVI, M. M., GOLZARDI, F. Algal extracts as biofertilizers: Impacts on soil fertility, plant nutrition and crop yield. **Algal Research**, v.62, p.102627, 2022.

FÁKHRI, M.; SAEED, A.; SHARAFI, S. M.; ASKARI, M.; RAHIMI, M. Biomass, pigment production, and nutrient uptake of *Chlorella* sp. under different photoperiods. **Biodiversitas**, Semarang, v. 22, n. 12, p. 5344–5349, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d221215>. Acesso em: 4 maio 2025.

GAO, B.; XU, Z.; ZHANG, L.; LI, Y.; HAN, L.; YU, X.; HUANG, L. Application of *Chlorella* and its bioactive compounds as bio-stimulants in sustainable agriculture: mechanisms and prospects. **Journal of Cleaner Production**, Amsterdam, v. 320, p. 128849, 2021.



GAO, F.; BAI, X.; WANG, Z.; LI, C.; WANG, Y. *Antioxidant systems in microalgae: their role and applications*. **Algal Research**, Amsterdam, v. 58, p. 102408, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102408>.

GARCÍA-CAPARRÓS, P.; LAO, M. T.; SEGURA, M. L. Influence of biostimulants on nutrient uptake: a review. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 12, article 643582, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.643582>.

GARCÍA-CAPARRÓS, P.; LAO, M. T.; SEGURA, M. L. Proline metabolism and oxidative stress in plants under salinity. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 12, p. 665, 2021.

GARCÍA-GONZÁLEZ, J., SOMMERFELD, M. Biofertilizer and biostimulant properties of the microalga *Chlorella* and its potential application in crop production. **Agronomy**, v.6, n.1, p.7, 2016.

GONÇALVES, J.; REIS, A.; MOREIRA, A.; CARVALHO, C.; SILVA, J. Microalgae as biofertilizers: a sustainable way to improve soil fertility and plant growth. **Sustainability, Basel**, v. 15, n. 16, p. 12413, 2023. DOI: 10.3390/su151612413.

GUO, J.; MAO, S.; ZHAO, Y.; ZHANG, Z.; SHI, K.; YU, J.; ZHOU, Y. Beneficial effects of microbial fertilizers on plant physiology and soil biology under drought stress: A review. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 185, p. 104399, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104399>.

HALPERN, M.; BAR-TAL, A.; OFEK, M.; MINZ, D.; MANDYAM, K.; JACOBS, J. M. in. The use of biostimulants for enhancing nutrient uptake. In: SPARKS, D. L. **Advances in Agronomy**. San Diego: Academic Press, 2015. v. 130, p. 141–174. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S006521131400008X>.

HASHEMI, S.; JAFARI, M.; MAJIDPOUR, H.; YAGHOUBI, H.; SADEGHI, H. Application of *Chlorella vulgaris* and plant growth-promoting rhizobacteria alleviates drought-induced oxidative stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.). **Plant Physiology Reports**, Nova Délhi, v. 27, p. 143–155, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40502-021-00611-6>.

HE, Y.; CAO, J.; DU, X.; MA, L.; XU, R.; ZHANG, T. Stomatal development and distribution in response to environmental cues. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 11, p. 609377, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.609377>.

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE – IPCC. **Sixth Assessment Report – Impacts, Adaptation and Vulnerability**. Geneva: IPCC, 2022. Disponível em: <https://www.ipcc.ch/report/ar6/wg2/>. Acesso em: 05 maio 2025.

KIM, H., PARK, Y., KIM, Y. Application of *Chlorella fusca* improves antioxidant capacity and drought tolerance in *Fragaria × ananassa*. **Frontiers in Plant Science**, v.14, p.1171080, 2023.

KIM, S. M.; PARK, J. H.; LEE, Y. J.; CHOI, Y. J. Amino acid profile of *Chlorella vulgaris* and its utilization in functional foods. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 306, p. 125622, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125622>.

KIM, S. M.; PARK, J. H.; LEE, Y. J.; CHOI, Y. J. Amino acid profile of *Chlorella vulgaris* and its utilization in functional foods. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 306, p. 125622, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125622>.

KIM, Y.-N.; KIM, Y.-J.; KIM, D.-S.; KIM, H.-T. Biostimulatory effects of *Chlorella fusca* CHK0059 on plant growth and fruit quality of strawberry. **Plants**, Basel, v. 12, n. 24, p. 4132, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants12244132>. Acesso em: 4 maio 2025.

KUSVURAN, A.; CAN, A. Effects of microalga (*Chlorella vulgaris*) on secondary metabolites and antioxidative defense system improve plant growth and salt tolerance in guar (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.). **Legume Research**, New Delhi, v. 43, p. 56–60, 2020. DOI: <https://doi.org/10.18805/LR-492>.

KUSVURAN, S. Microalgae (*Chlorella vulgaris*) alleviates drought stress of broccoli plants by improving nutrient uptake, secondary metabolites, and antioxidative defense system. **Horticultural Plant Journal**, Amsterdam, v. 7, n. 3, p. 221–231, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2021.03.007>.

KUSVURAN, S.; CAN, M. Application of microalgae (*Chlorella vulgaris*) to drought-stressed plants: a review on its physiological and biochemical contributions. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 32, p. 1049–1060, 2020.

LI, H.; WANG, Q.; ZHANG, Y.; FENG, X.; WANG, B. Long-term physiological benefits of exogenous microalgae extract on wheat seedlings under drought. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 167, p. 103838, 2019.

LI, M.; HUANG, J.; SHI, T.; ZHANG, W.; CHEN, H. Exopolysaccharides from microalgae improve drought tolerance and cellular water retention. **Plant Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 139, p. 243–252, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.03.013>.

LI, M.; HUANG, J.; SHI, T.; ZHANG, W.; CHEN, H. Exopolysaccharides from microalgae improve drought tolerance and cellular water retention. **Plant Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 139, p. 243–252, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.03.013>.

LIMA, T. J.; SANTOS, A. C.; GOMES, V. R.; COSTA, I. A.; SOARES, P. S. Anatomical plasticity and water use in seedlings of native species under drought. **Trees**, Berlin, v. 35, p. 275–289, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00468-020-02001-7>.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Métodos de análise química de plantas**. Piracicaba: POTAFOS, 1997.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 7, n. 9, p. 405–410, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9).

MOON, C. K.; LEE, S. H.; SHIN, S. K.; LEE, G. H.; CHO, M. J.; BAE, J. Y.; KIM, J. H. The role of microalgae-based biostimulants in drought tolerance of crops: a physiological and transcriptomic perspective. **Scientific Reports**, London, v. 14, p. 2339, 2024.

MOON, J.; PARK, Y. J.; CHOI, Y. B.; TRUONG, T. Q.; HUYNH, P. K.; KIM, Y. B.; KIM, S. M. Physiological effects and mechanisms of *Chlorella vulgaris* as a biostimulant on the growth and drought tolerance of *Arabidopsis thaliana*. **Plants**, Basel, v. 13, n. 21, article 3012, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants13213012>.

RABHI, M.; ATIA, A.; RIAHI, I.; LAHSEN, H.; HANNACHI, C.; BOUREGAA, A. Microalgae-based biofertilizers improve physiological and biochemical responses in maize under drought stress. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, Amsterdam, v. 51, p. 110899, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2023.110899>.

RAJABI DEHNAVI, A.; FARHADNEJAD, M.; ZANDI, P.; KHAHANI, B.; KIAKALAYEH, S.; AHMAD, M.; CHEN, D. Advances in the role of algal-based biostimulants for improving drought tolerance in crops: a comprehensive review. **Journal of Plant Growth Regulation**, Nova York, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00344-023-10956-z>.

RENGANATHAN, P.; GAYSINA, L. A.; HOLGUÍN-PEÑA, R. J.; SAINZ-HERNÁNDEZ, J. C.; ORTEGA-GARCÍA, J.; RUEDA-PUENTE, E. O. Phycoremediated microalgae and cyanobacteria biomass as biofertilizer for sustainable agriculture: a holistic biorefinery approach to promote circular bioeconomy. **Biomass**, Basel, v. 4, n. 4, p. 1047–1077, 2024. DOI: 10.3390/biomass4040059. Acesso em: 5 jul. 2025.

RONGA, D.; BORGOGNA, M.; CATTIVELLI, L.; CHIARINI, L.; FRANCINI, A.; CANTARIN, M.; TAVERNELLI, P.; ROSSI, L. Microalgae biostimulants as innovative sustainable tools to improve tomato plant performance. **Agronomy**, Basel, v. 9, n. 8, p. 452, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy9080452>.

ROUPHAEL, Y., COLLA, G. Toward a sustainable agriculture through plant biostimulants: From experimental data to practical applications. **Agronomy**, v.10, n.9, p.1461, 2020.

ROUPHAEL, Y.; COLLA, G. Toward a sustainable agriculture through plant biostimulants: from experimental data to practical applications. **Agronomy**, Basel, v. 10, n. 10, p. 1461, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agronomy10101461>. Acesso em: 4 maio 2025.

SAFONOVA, E.; LARIONOVA, A.; ZHURAVSKY, S.; KUZNETSOVA, T.; TSYGANOVA, T. Biotechnological potential of microalgae in sustainable agriculture. **Agronomy Research**, Tartu, v. 18, p. 1215–1232, 2020.

SAFONOVA, E.; LEVKOV, O.; KRYLOVA, I.; BAZARNOVA, J.; KRYLOV, D. Microalgae as a source of natural antioxidants. **Marine Drugs**, Basel, v. 18, n. 10, 589, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/md18100589>.

SOUZA, A. G.; PINHEIRO, H. A.; SANTOS, T. O.; TEIXEIRA, M. M. Anatomical changes and drought tolerance in seedlings of *Enterolobium contortisiliquum* (Fabaceae) under water deficit. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 34, n. 3, p. 567–577, 2020.

STIRK, W. A., ÖRDÖG, V., VAN STADEN, J. Auxins in microalgae. In: Plant Hormones. Springer. Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S., & Nasrulhaq Boyce, A. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability—A review. **Molecules**, v.21, n.5, p.573, 2020.

SZABADOS, L.; SAVOURÉ, A. Proline: a multifunctional amino acid. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 15, n. 2, p. 89–97, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.11.009>.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

VEJAN, P.; ABDULLAH, R.; KHADIRAN, T.; ISMAIL, S.; BOOJAR, M. M. A. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability – a review. **Molecules**, Basel, v. 21, n. 5, p. 573, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules21050573>. Acesso em: 4 maio 2025.

WANG, B.; LI, X.; WANG, G. Responses of the desert green algae *Chlorella sp.* to drought stress. **Journal of Phycology**, New Jersey, v. 59, n. 8, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1111/jpy.13399>.

WUANG, S. C., KHIN, M. C., CHUA, P. Q. D. Use of microalgae for removing nutrients from municipal wastewater: Review of technologies and recent developments. **Bioresource Technology**, v.214, p.451–466, 2016.

ZACHARIAS, R. S.; LIMA, A. M.; DIAS, J. M. M.; DIAS, L. A. S.; LEÃO, K. C.; GOMES, F. B. Produção de mudas de *Cedrela fissilis* sob diferentes níveis de sombreamento. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 27, n. 1, p. 1–10, 2020.

ZHANG, X.; JING, Y.; SUN, J.; CHEN, D.; HUANG, X.; CAO, W. Mind the leaf anatomy while taking ground truth with portable chlorophyll meters. **Scientific Reports**, London, v. 14, article 84052, 2024. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-024-84052-5>. Acesso em: 4 maio 2025.

ZHANG, Y., LI, L., WANG, J., WANG, S. Leaf anatomical adjustments contribute to drought resilience in crop species treated with natural biostimulants. **Scientific Reports**, v.14, p.12647, 2024.

ZHAO, X.; LI, Y.; WU, H.; HAN, Y.; ZHANG, K. Integrated transcriptomic and physiological analysis reveals drought-induced mechanisms in *Populus davidiana*. **BMC Plant Biology**, London, v. 22, p. 98, 2022.

ZHOU, J.; WANG, Y.; SHANG, Q.; JIANG, C.; CHENG, X.; ZHANG, L. Exogenous microalgae application enhances drought resilience in tomato through modulation of photosynthetic anatomy and antioxidative metabolism. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 187, p. 105–115, 2022.

ZHOU, W.; GUO, X.; YU, R.; DING, R.; LIU, Z. Role of microalgae-derived metabolites in nutrient mobilization and soil improvement: a review. **Environmental Research**, Amsterdam, v. 211, p. 113064, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113064>.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta tese consolidou, de forma inédita, uma base experimental e conceitual para o uso de *Chlorella* sp. como bioinsumo multifuncional no condicionamento ecofisiológico de *Cedrela fissilis* Vell sob diferentes regimes hídricos, estabelecendo faixas de aplicação definidas a partir de derivação matemática das curvas de resposta e validadas por análises integradas de crescimento, fotossíntese, nutrição mineral, anatomia foliar e metabolismo antioxidante. Ao revelar que a microalga atua simultaneamente na manutenção da funcionalidade fotossintética, na modulação da eficiência hídrica intrínseca, na reconfiguração anatômica adaptativa e na ativação de mecanismos de defesa celular, o presente trabalho ultrapassa a visão de *Chlorella* sp. como insumo meramente nutricional, posicionando-a como ferramenta biotecnológica para mitigação de estresses abióticos em espécies florestais de elevado valor ecológico e econômico.

As implicações práticas são amplas e diretamente transponíveis para programas de produção e implantação de mudas, restauração ecológica e sistemas agroflorestais. Em viveiros florestais, o protocolo de aplicação proposto permite a obtenção de mudas mais robustas, com melhor índice de qualidade e maior resiliência no transplante, reduzindo custos de replante e perdas iniciais.

Em projetos de restauração e reflorestamento, a tecnologia confere maior taxa de sobrevivência e crescimento inicial, especialmente em áreas com alta variabilidade hídrica, acelerando o fechamento do dossel e favorecendo a recuperação funcional dos ecossistemas.

Na agricultura e na silvicultura sustentável, a incorporação de *Chlorella* sp. como bioestimulante permite reduzir a dependência de fertilizantes sintéticos, minimizar a degradação ambiental associada ao manejo convencional e potencializar práticas integradas em sistemas produtivos que conciliam conservação e geração de renda.

Esses resultados dialogam diretamente com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da ONU, particularmente com o ODS 2 (Fome Zero e Agricultura Sustentável), ao oferecer tecnologia que eleva a eficiência produtiva e a resiliência das espécies cultivadas; o ODS 13 (Ação Contra a Mudança Global do Clima), ao mitigar efeitos da seca e aumentar a capacidade adaptativa de sistemas florestais e agroflorestais; e o ODS 15 (Vida Terrestre), ao contribuir para a restauração de áreas degradadas e a conservação de espécies nativas ameaçadas. A abordagem proposta também reforça o princípio da bioeconomia, estimulando cadeias produtivas de baixo impacto ambiental e valorizando o uso de insumos renováveis de produção local.

A relevância científica e prática deste estudo reside na capacidade de unir rigor metodológico ao definir doses fisiologicamente ótimas e funções-resposta precisas, com aplicabilidade operacional em múltiplos contextos de manejo. Essa integração gera um modelo replicável para outras espécies e condições edafoclimáticas, fornecendo base sólida para políticas públicas, certificações ambientais e estratégias empresariais voltadas à restauração e à produção sustentável.

Em síntese, esta pesquisa demonstra que a convergência entre ecofisiologia avançada, inovação biotecnológica e diretrizes globais de sustentabilidade pode resultar em soluções concretas, escaláveis e de alto impacto, aptas a enfrentar os desafios impostos pelas mudanças climáticas e pela degradação dos ecossistemas, ao mesmo tempo em que fomentam a produtividade e a resiliência nos sistemas agrícolas e florestais.