

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS**

**DÉFICIT HÍDRICO ASSOCIADO À MICORRIZAS  
ARBUSCULARES E ÁCIDO ABSCÍSIKO NO  
METABOLISMO FOTOSSINTÉTICO E CRESCIMENTO  
INICIAL DE MUDAS DE *Dipteryx alata* Vogel**

MAÍLSON VIEIRA JESUS

DOURADOS  
MATO GROSSO DO SUL  
2020

**DÉFICIT HÍDRICO ASSOCIADO À MICORRIZAS  
ARBUSCULARES E ÁCIDO ABCSÍCIO NO METABOLISMO  
FOTOSSINTÉTICO E CRESCIMENTO INICIAL DE MUDAS DE  
*Dipteryx alata* Vogel**

MAÍLSON VIEIRA JESUS  
Engenheiro Agrônomo

Orientadora: PROFa. DRa. SILVANA DE PAULA QUINTÃO SCALON

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.

Dourados  
Mato Grosso do Sul  
2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

J58d Jesus, Mailson Vieira

DÉFICIT HÍDRICO ASSOCIADO À MICORRIZAS ARBUSCULARES E ÁCIDO  
ABSCÍSSICO NO METABOLISMO FOTOSSINTÉTICO E CRESCIMENTO INICIAL DE  
MUDAS DE *Dipteryx alata* Vogel [recurso eletrônico] / Mailson Vieira Jesus. -- 2021.

Arquivo em formato pdf.

Orientador: Silvana de Paula Quintão Scalon.

Tese (Doutorado em Agronomia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2020.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. baru. 2. estresse hídrico. 3. fungos micorrízicos arbusculares. 4. regulador vegetal. 5.  
resiliência. I. Scalon, Silvana De Paula Quintão. 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.

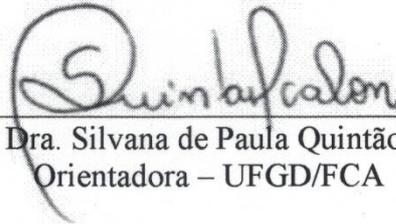
**DÉFICIT HÍDRICO ASSOCIADO À MICORRIZAS ARBUSCULARES E  
ÁCIDO ABCÍSIKO NO METABOLISMO FOTOSSINTÉTICO E  
CRESCIMENTO INICIAL DE MUDAS DE *Dipteryx alata* Vogel**

por

Maílson Vieira Jesus

Tese apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de  
DOUTOR EM AGRONOMIA

Aprovada em: 29/10/2020



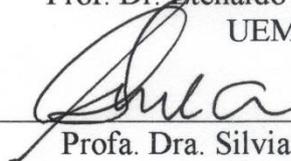
Profª. Dra. Silvana de Paula Quintão Scalon  
Orientadora – UFGD/FCA



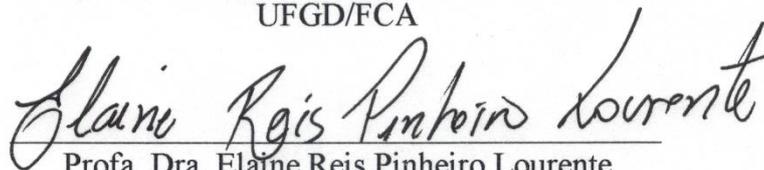
Profª. Dra. Daiane Mugnol Dresch  
UNIGRAN



Prof. Dr. Etenaldo Felipe Santiago  
UEMS



Profª. Dra. Silvia Correa Santos  
UFGD/FCA



Profª. Dra. Elaine Reis Pinheiro Lourente  
UFGD/FCA

*“E todas as árvores do campo saberão que eu sou o SENHOR, que abato a árvore alta e exalto a árvore baixa, faço secar a árvore verde e brotar a árvore seca.”*

**Ezequiel, 17:24**

*A Deus e aos meus pais, Diva Aparecida Vieira  
e José Fernando da Costa Jesus.*

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

A DEUS, que em Seu infinito amor e misericórdia, me deu a graça da realização deste trabalho, o qual, assim como tudo que tenho e sou, é para Sua Glória.

À Universidade Federal da Grande Dourados e Faculdade de Ciências Agrárias, pelos meios concedidos à minha formação acadêmica e execução deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro através da concessão da bolsa de estudos.

À Profa. Dra. Silvana de Paula Quintão Scalon, pela orientação, ensinamentos, profissionalismo, confiança, compreensão e amizade.

À Profa. Dra. Daiane Mugnol Dresch, pela solicitude no auxílio durante a realização do trabalho e pela amizade.

Ao Pesquisador Dr. Francisco Adriano de Souza, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas-MG, pelo fornecimento dos esporos dos Fungos Micorrízicos Arbusculares e todo apoio na elaboração da metodologia de pesquisa, sendo fundamental para a realização deste trabalho e em me proporcionar um novo conhecimento.

Às Profas. Dras. Amanda Gonçalves Guimarães, Cristiane Bezerra da Silva, Elaine Reis Pinheiro Lourente e Silvia Correa Santos, e aos Profs. Drs. Cleberton Correia Santos e Rodrigo Kelson Silva Rezende pelos auxílios prestados durante o desenvolvimento da pesquisa.

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Produção Vegetal, pelos ensinamentos e inúmeros auxílios durante todo curso.

Aos integrantes do GEEP, Grupo de Estudos em Ecofisiologia de Plantas da UFGD, em especial, Jéssica Aline Linné, Lucas Coutinho Reis e Vânia Tomazalli de Lima que estiveram presentes ao longo de todo o Doutorado e pela amizade.

Aos meus pais Diva Aparecida Vieira e José Fernando da Costa Jesus por todo amor, dedicação, renúncia, educação, base, amizade, apoio, confiança, e referência de vida.

A todos amigos, em especial, Igor Rondon de Almeida, João Victor Stefanello, Fabrícia Ramos e Tárík El Kadri, por todo apoio, motivação e base ao longo da realização do Doutorado.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para que este trabalho fosse realizado.

## **BIOGRAFIA DO AUTOR**

MAÍLSON VIEIRA JESUS, filho de José Fernando da Costa Jesus e Diva Aparecida Vieira, nasceu aos 11 dias do mês de abril de 1988, na cidade de Campo Grande, estado de Mato Grosso do Sul, Brasil.

Concluiu o ensino médio na escola, Moderna Associação Campo-grandense de Ensino (MACE) em dezembro de 2005, em Campo Grande, Mato Grosso do Sul.

Em março de 2010, ingressou no curso de Agronomia da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, Mato Grosso de Sul, Brasil, obtendo o título de Engenheiro Agrônomo em março de 2014. Durante a graduação realizou trabalhos como voluntário e bolsista de iniciação científica do PIBIC/CNPq, nas áreas de Fisiologia Vegetal e Biotecnologia Vegetal.

Em março de 2015, ingressou no curso de mestrado em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, no Programa de Pós-graduação em Agronomia da FCA/UFGD, obtendo o título de Mestre em abril de 2017. No mesmo ano, iniciou o Doutorado em Agronomia/Produção Vegetal (FCA/UFGD), obtendo o título de Doutor em outubro de 2020.

Atualmente, é Professor Substituto do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul (IFMS), lotado no *Campus* - Ponta Porã, em Ponta Porã, MS, Brasil.

## SUMÁRIO

	PÁGINA
LISTA DE FIGURAS .....	11
CAPÍTULO I                      PÁGINA.....	11
CAPÍTULO II .....	14
ANEXOS .....	16
RESUMO GERAL.....	18
GENERAL ABSTRACT.....	20
1 INTRODUÇÃO GERAL .....	1
1.1 Déficit hídrico em plantas.....	1
1.2 Micorrizas arbusculares e déficit hídrico .....	3
1.3 Relação ácido abscísico, micorrizas arbusculares e déficit hídrico. ....	4
1.4 Contextualização da <i>Dipteryx alata</i> Vogel (Fabacea).....	4
2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	7
CAPÍTULO I .....	11
EXPLORANDO O COMPLEXO ÁCIDO ABCÍSIKO-MICORRIZA ARBUSCULAR EM MUDAS DE <i>Dipteryx alata</i> Vogel SOB DÉFICIT HÍDRICO .....	11
RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	13
1 INTRODUÇÃO .....	14
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	17
2.1 Local e instalação do experimento.....	17
2.2 Inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) .....	18
2.3 Aplicação de ácido abscísico .....	18
2.4 Regimes hídricos e épocas de avaliação.....	18
2.5 Delineamento experimental .....	19
2.6 Parâmetros fisiológicos e de crescimento avaliados .....	19
2.7 Parâmetros micorrízicos avaliados.....	21
2.8 Análises estatísticas.....	23
3 RESULTADOS.....	24
3.1 Parâmetros ecofisiológicos, dependência micorrízica e qualidade de mudas ..	24

3.2	Parâmetros micorrízicos .....	33
4	DISCUSSÃO .....	40
5	CONCLUSÃO .....	50
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	51
CAPÍTULO II .....		59
MICORRIZAS ARBUSCULARES NA PRODUÇÃO DE MUDAS DE <i>Dipteryx alata</i> Vogel COM QUALIDADE E RESILIENTES AO DÉFICIT HÍDRICO.....		59
RESUMO.....		60
ABSTRACT.....		61
1	INTRODUÇÃO .....	62
2	MATERIAL E MÉTODOS .....	64
3	RESULTADOS.....	68
4	DISCUSSÃO .....	75
5	CONCLUSÃO .....	79
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	80
CONCLUSÕES GERAIS.....		85
ANEXOS .....		86

## LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I	PÁGINA
FIGURA 1. Umidade relativa (U.R.) e Temperatura (Temp) externa ao viveiro durante o período experimental (agosto de 2018 a maio de 2019). Fonte: Estação Meteorológica da EMBRAPA Agropecuária de Dourados – MS (A), e aferidas no viveiro (B). Dourados/MS, UFGD, 2020. ....	19
FIGURA 2. Potencial hídrico - $\Psi_w$ em mudas de <i>Dipteryx alata</i> em função de regime hídrico – C: controle, D: déficit; épocas de avaliação - F: fotossíntese zero (7 dias da suspensão da irrigação), R: recuperação (100 dias após F); e inoculação com FMAs: SM (sem inoculação), M1 ( <i>R. heterosporum</i> ), M2 ( <i>R. clarum</i> ), MO (mistura <i>On farm</i> ). Asterístico (*) indica diferença significativa entre os experimentos (ABA- e ABA+), para um mesmo inoculante, à $P \geq 0,05$ . Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P \geq 0,05$ ) na comparação entre todos os tratamentos e épocas de cada experimento. Dourados/MS, UFGD, 2020. ....	24
FIGURA 3. Conteúdo relativo de água – CRA em mudas de <i>Dipteryx alata</i> em função de regime hídrico – C: controle, D: déficit; épocas de avaliação - F: fotossíntese zero (7 dias da suspensão da irrigação), R: recuperação (100 dias após F); e inoculação com FMAs: SM (sem inoculação), M1 ( <i>R. heterosporum</i> ), M2 ( <i>R. clarum</i> ), MO (mistura <i>On farm</i> ). Asterístico (*) indica diferença significativa entre os experimentos (ABA- e ABA+), para um mesmo inoculante, à $P \geq 0,05$ . Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P \geq 0,05$ ) na comparação entre todos os tratamentos e épocas de cada experimento. Dourados/MS, UFGD, 2020. ....	25
FIGURA 4. Taxas fotossintética – A em mudas de <i>Dipteryx alata</i> em função de regime hídrico – C: controle, D: déficit; épocas de avaliação - F: fotossíntese zero (7 dias da suspensão da irrigação), R: recuperação (100 dias após F); e inoculação com FMAs: SM (sem inoculação), M1 ( <i>R. heterosporum</i> ), M2 ( <i>R. clarum</i> ), MO (mistura <i>On farm</i> ). Asterístico (*) indica diferença significativa entre os experimentos (ABA- e ABA+), para um mesmo inoculante, à $P \geq 0,05$ . Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P \geq 0,05$ ) na comparação entre todos os tratamentos e épocas de cada experimento. Dourados/MS, UFGD, 2020. ....	26
FIGURA 5. Taxas de transpiração – E em mudas de <i>Dipteryx alata</i> em função de regime hídrico – C: controle, D: déficit; épocas de avaliação - F: fotossíntese zero (7 dias da suspensão da irrigação), R: recuperação (100 dias após F); e inoculação com FMAs: SM (sem inoculação), M1 ( <i>R. heterosporum</i> ), M2 ( <i>R. clarum</i> ), MO (mistura <i>On farm</i> ).	

Asterístico (\*) indica diferença significativa entre os experimentos (ABA- e ABA+), para um mesmo inoculante, à  $P \geq 0,05$ . Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P \geq 0,05$ ) na comparação entre todos os tratamentos e épocas de cada experimento. Dourados/MS, UFGD, 2020. ....27

FIGURA 6. Concentração interna de  $\text{CO}_2 - C_i$  em mudas de *Dipteryx alata* em função de regime hídrico – C: controle, D: déficit; épocas de avaliação - F: fotossíntese zero (7 dias da suspensão da irrigação), R: recuperação (100 dias após F); e inoculação com FMAs: SM (sem inoculação), M1 (*R. heterosporum*), M2 (*R. clarum*), MO (mistura *On farm*). Asterístico (\*) indica diferença significativa entre os experimentos (ABA- e ABA+), para um mesmo inoculante, à  $P \geq 0,05$ . Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P \geq 0,05$ ) na comparação entre todos os tratamentos e épocas de cada experimento. Dourados/MS, UFGD, 2020. ....28

FIGURA 7. Condutância estomática –  $g_s$  em mudas de *Dipteryx alata* em função de regime hídrico – C: controle, D: déficit; épocas de avaliação - F: fotossíntese zero (7 dias da suspensão da irrigação), R: recuperação (100 dias após F); e inoculação com FMAs: SM (sem inoculação), M1 (*R. heterosporum*), M2 (*R. clarum*), MO (mistura *On farm*). Asterístico (\*) indica diferença significativa entre os experimentos (ABA- e ABA+), para um mesmo inoculante, à  $P \geq 0,05$ . Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P \geq 0,05$ ) na comparação entre todos os tratamentos e épocas de cada experimento. Dourados/MS, UFGD, 2020. ....29

FIGURA 8. Fluorescência inicial -  $F_0$  (A), eficiência quântica potencial do FSII -  $F_v/F_m$  (B) em mudas de *Dipteryx alata* em função de regime hídrico regime hídrico – C: controle, D: déficit; épocas de avaliação - F: fotossíntese zero (7 dias da suspensão da irrigação), R: recuperação (100 dias após F); e inoculação com FMAs: SM (sem inoculação), M1 (*R. heterosporum*), M2 (*R. clarum*), MO (mistura *On farm*). Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P \geq 0,05$ ) na comparação entre todos os tratamentos. Dourados/MS, UFGD, 2020. ....30

FIGURA 9. Índice de Qualidade de Dickson -  $I_{QD}$  em mudas de *Dipteryx alata* em função de regime hídrico – C: controle, D: déficit; épocas de avaliação - F: fotossíntese zero (7 dias da suspensão da irrigação), R: recuperação (100 dias após F); e inoculação com FMAs: SM (sem inoculação), M1 (*R. heterosporum*), M2 (*R. clarum*), MO (mistura *On farm*). Asterístico (\*) indica diferença significativa entre os experimentos (ABA- e ABA+), para um mesmo inoculante, à  $P \geq 0,05$ . Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P$

- $\geq 0,05$ ) na comparação entre todos os tratamentos e épocas de cada experimento. Dourados/MS, UFGD, 2020. ....31
- FIGURA 10. *Heat map* da análise de correlação de Pearson bivariada entre os parâmetros avaliados em mudas de *Dipteryx alata*, nos experimentos sem aplicação de ABA (**A**), e com aplicação de ABA (**B**). \* correlações significativas à  $P \geq 0,05$ . \*\* correlações significativas à  $P \geq 0,01$ . Dourados/MS, UFGD, 2020. ....32
- FIGURA 11. Dependência micorrízica de campo relativo - *RFMD* em mudas de *Dipteryx alata* em função de regime hídrico – C: controle, D: déficit; épocas de avaliação - F: fotossíntese zero (7 dias da suspensão da irrigação), R: recuperação (100 dias após F); e inoculação com FMAs: SM (sem inoculação), M1 (*R. heterosporum*), M2 (*R. clarum*), MO (mistura *On farm*). Asterístico (\*) indica diferença significativa entre os experimentos (ABA- e ABA+), para um mesmo inoculante, à  $P \geq 0,05$ . Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P \geq 0,05$ ) na comparação entre todos os tratamentos e épocas de cada experimento. Dourados/MS, UFGD, 2020. ....33
- FIGURA 12. Visualização microscópica de raízes de *Dipteryx alata* sem colonização de FMAs (**A**, x400); coloração histoquímica com azul de tripano em raízes de *D. alata* colonizadas por espécies de FMAs (*On farm*) (**B**, x400); hifas extrarradiciais de *Rhizoglosum clarum* (**C**, x400); detalhe do ponto de entrada de hifa de *R. heterosporum* (**D**, x400); hifas intrarradiciais e vesículas (**E**, x400); detalhe de arbúsculos da micorriza com *R. clarum* (**F**, x400). Dourados/MS, UFGD, 2020.....34
- FIGURA 13. Intensidade de colonização dos FMAs no sistema radicular - *M%* em mudas de *Dipteryx alata* em função de regime hídrico – C: controle, D: déficit; épocas de avaliação - F: fotossíntese zero (7 dias da suspensão da irrigação), R: recuperação (100 dias após F); e inoculação com FMAs: SM (sem inoculação), M1 (*R. heterosporum*), M2 (*R. clarum*), MO (mistura *On farm*). Asterístico (\*) indica diferença significativa entre os experimentos (ABA- e ABA+), para um mesmo inoculante, à  $P \geq 0,05$ . Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P \geq 0,05$ ) na comparação entre todos os tratamentos e épocas de cada experimento. Dourados/MS, UFGD, 2020. ....35
- FIGURA 14. Intensidade de colonização dos FMAs nos fragmentos radiculares - *m%* em mudas de *Dipteryx alata* em função de regime hídrico – C: controle, D: déficit; épocas de avaliação - F: fotossíntese zero (7 dias da suspensão da irrigação), R: recuperação (100 dias após F); e inoculação com FMAs: SM (sem inoculação), M1 (*R. heterosporum*), M2 (*R. clarum*), MO (mistura *On farm*). Asterístico (\*) indica

diferença significativa entre os experimentos (ABA- e ABA+), para um mesmo inoculante, à  $P \geq 0,05$ . Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P \geq 0,05$ ) na comparação entre todos os tratamentos e épocas de cada experimento. Dourados/MS, UFGD, 2020. ....36

FIGURA 15. Abundância arbuscular no sistema radicular - A% (**A**); e nas partes micorrízicas dos fragmentos radiculares - a% (**B**) em mudas de *Dipteryx alata* em função de regime hídrico – C: controle, D: déficit; épocas de avaliação - F: fotossíntese zero (7 dias da suspensão da irrigação), R: recuperação (100 dias após F); e inoculação com FMAs: SM (sem inoculação), M1 (*R. heterosporum*), M2 (*R. clarum*), MO (mistura *On farm*). Asterístico (\*) indica diferença significativa entre os experimentos (ABA- e ABA+), para um mesmo inoculante, à  $P \geq 0,05$ . Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P \geq 0,05$ ) na comparação entre todos os tratamentos e épocas de cada experimento. Dourados/MS, UFGD, 2020. ....37

FIGURA 16. Triplot da análise de redundância (RDA), com parâmetros de colonização micorrízica (M%: intensidade de colonização dos FMA no sistema radicular; m%: intensidade de colonização dos FMA nos fragmentos radiculares; A% abundância arbuscular no sistema radicular; a%: abundância arbuscular nas partes micorrízicas dos fragmentos radiculares) como resposta, e experimentos (ABA- e ABA+) e tratamentos (M1 - *R. heterosporum*, M2 - *R. clarum*, MO - mistura *On farm*) como descritores. Setas em negrito indicam variáveis significativas do teste de permutação ( $P \leq 0,05$ ). Dourados/MS, UFGD, 2020. ....39

## CAPÍTULO II

FIGURA 1. Umidades relativas (U.R.) e temperaturas (Temp) aferidas nas épocas de avaliação experimental, tempo zero (T0) – fevereiro/2019; fotossíntese zero (F0) – fevereiro/2019; e recuperação (REC) – maio/2019. Dourados/MS, UFGD, 2020. ....65

FIGURA 2. Índice de qualidade de Dickson - IQD em mudas de *Dipteryx alata* Vogel em função de regime hídrico (C: controle, D: déficit); épocas de avaliação (T0: tempo zero - 150 dias após semeadura; F0: fotossíntese zero - 7 dias da suspensão da irrigação, REC: recuperação - 100 dias após F0); e inoculação com FMAs: MA- (sem inoculação) e MA+ (com *Rhizoglosum clarum*). Médias de letras maiúsculas iguais não diferem entre si para época de avaliação em cada nível de tratamento pelo teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Letras minúsculas iguais não diferem entre si para tratamento em cada nível de época de avaliação pelo teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Dourados/MS, UFGD, 2020. ....68

- FIGURA 3. Índice de qualidade de Dickson - *IQD* em mudas de *Dipteryx alata* Vogel em função de regime hídrico (C: controle, D: déficit); épocas de avaliação (T0: tempo zero - 150 dias após semeadura; F0: fotossíntese zero - 7 dias da suspensão da irrigação, REC: recuperação - 100 dias após F0); e inoculação com FMAs: MA- (sem inoculação) e MA+ (com *Rhizoglyphus clarum*). Médias de letras maiúsculas iguais não diferem entre si para época de avaliação em cada nível de tratamento pelo teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Letras minúsculas iguais não diferem entre si para tratamento em cada nível de época de avaliação pelo teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Dourados/MS, UFGD, 2020. ....68
- FIGURA 4. Razão de área foliar:massa seca total – *RAF* em mudas de *Dipteryx alata* Vogel em função de regime hídrico (C: controle, D: déficit); épocas de avaliação (T0: tempo zero - 150 dias após semeadura; F0: fotossíntese zero -7 dias da suspensão da irrigação, REC: recuperação - 100 dias após F0); e inoculação com FMAs: MA- (sem inoculação) e MA+ (com *Rhizoglyphus clarum*). Médias de letras maiúsculas iguais não diferem entre si para época de avaliação em cada nível de tratamento pelo teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Letras minúsculas iguais não diferem entre si para tratamento em cada nível de época de avaliação pelo teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Dourados/MS, UFGD, 2020. ....69
- FIGURA 5. Razão raiz:parte aérea - *R:PA* em mudas de *Dipteryx alata* Vogel em função de épocas de avaliação – T0: tempo zero (150 dias após semeadura); F0: fotossíntese zero (7 dias da suspensão da irrigação), REC: recuperação (100 dias após F0). Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Dourados/MS, UFGD, 2020. ....70
- FIGURA 6. Índice de clorofila - *SPAD* em mudas de *Dipteryx alata* Vogel em função de regime hídrico – C: controle, D: déficit; e inoculação com FMAs: MA- (sem inoculação) e MA+ (*R. clarum*). Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Dourados/MS, UFGD, 2020.....70
- FIGURA 7. Índice de clorofila - *SPAD* em mudas de *Dipteryx alata* Vogel em função de regime hídrico – C: controle, D: déficit; e inoculação com FMAs: MA- (sem inoculação) e MA+ (*R. clarum*). Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Dourados/MS, UFGD, 2020.....70
- FIGURA 8. Potencial hídrico –  $\Psi_w$  em mudas de *Dipteryx alata* Vogel em função de regime hídrico (C: controle, D: déficit); épocas de avaliação (T0: tempo zero - 150 dias após semeadura; F0: fotossíntese zero - 7 dias da suspensão da irrigação, REC: recuperação - 100 dias após F0); e inoculação com FMAs: MA- (sem inoculação) e MA+ (com *Rhizoglyphus clarum*). Médias de letras maiúsculas iguais não diferem

entre si para época de avaliação em cada nível de tratamento pelo teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Letras minúsculas iguais não diferem entre si para tratamento em cada nível de época de avaliação pelo teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Dourados/MS, UFGD, 2020. ....71

FIGURA 9. Conteúdo relativo de água – *CRA* em mudas de *Dipteryx alata* Vogel em função de regime hídrico (C: controle, D: déficit); épocas de avaliação (T0: tempo zero - 150 dias após semeadura; F0: fotossíntese zero - 7 dias da suspensão da irrigação, REC: recuperação - 100 dias após F0); e inoculação com FMAs: MA- (sem inoculação) e MA+ (com *Rhizoglonus clarum*). Médias de letras maiúsculas iguais não diferem entre si para época de avaliação em cada nível de tratamento pelo teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Letras minúsculas iguais não diferem entre si para tratamento em cada nível de época de avaliação pelo teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Dourados/MS, UFGD, 2020. ....72

FIGURA 10. Eficiência no uso da água – *EUA* (A) e eficiência instantânea de carboxilação da Rubisco – *A/C<sub>i</sub>* (B) em mudas de *Dipteryx alata* Vogel em função de regime hídrico (C: controle, D: déficit); épocas de avaliação (T0: tempo zero - 150 dias após semeadura; F0: fotossíntese zero - 7 dias da suspensão da irrigação, REC: recuperação - 100 dias após F0); e inoculação com FMAs: MA- (sem inoculação) e MA+ (com *Rhizoglonus clarum*). Médias de letras maiúsculas iguais não diferem entre si para época de avaliação em cada nível de tratamento pelo teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Letras minúsculas iguais não diferem entre si para tratamento em cada nível de época de avaliação pelo teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Dourados/MS, UFGD, 2020. ....73

FIGURA 11. Índice Relativo de Desvio de Déficit Hídrico – *RDAR* calculado para: conteúdo relativo de água (*CRA*) (A); eficiência no uso da água (*EUA*) (B); e eficiência instantânea de carboxilação da Rubisco (*A/C<sub>i</sub>*) (C), em mudas de *Dipteryx alata* em função de regime hídrico (C: controle, D: déficit); épocas de avaliação (F0: fotossíntese zero - 7 dias da suspensão da irrigação, REC: recuperação - 100 dias após F0); e inoculação com FMAs: MA- (sem inoculação) e MA+ (*R. clarum*). A área pontilhada representa a parte não aliviada do impacto do déficit hídrico no parâmetro estudado, mas a área grelhada representa a parte aliviada realizada pela inoculação de FMA. Dourados/MS, UFGD, 2020. ....74

## ANEXOS

FIGURA 1. Substrato composto da mistura de terra+areia (2:1), sendo preparado para esterilização em autoclave (A); vasos de capacidade de 7 litros, contendo substrato, prontos para a semeadura de *Dipteryx alata* Vogel (B); detalhe do processo de emergência de mudas de *D. alata* (C); detalhe da inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (D). ....86

- FIGURA 2. Solução de 50  $\mu$ M de ácido abscísico e utensílios para aplicação (**A**); detalhe da aplicação da solução de ácido abscísico (**B**); detalhe das mudas de *D. alata* estabelecidas em vasos (**C**); imagem panorâmica do experimento em telado (**D**). .....87
- FIGURA 3. Avaliação de trocas gasosas em mudas de *D. alata* utilizando o equipamento IRGA (**A**); avaliação do potencial hídrico em folhas de *D. alata* utilizando câmara de pressão (**B**); lavagem de raízes das mudas de *D. alata* em peneira para avaliação de parâmetros micorrízicos (**C**). .....87

## RESUMO GERAL

JESUS, Maílson Vieira. **Déficit hídrico associado à micorrizas arbusculares e ácido abscísico no metabolismo fotossintético e crescimento inicial de mudas de *Dipteryx alata* Vogel**. 2020. 109f. (Doutorado em Agronomia/Produção Vegetal) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados - MS.

O déficit hídrico tem sido mais frequente com as mudanças climáticas e por práticas inadequadas de uso do solo, influenciando nos padrões de distribuição das chuvas e na capacidade de absorção da água pelas plantas. As plantas desenvolvem mecanismos de aclimação e adaptação, para garantir sua sobrevivência em condições adversas. Nesse sentido, a simbiose micorrízica arbuscular (MA) tem importante papel no auxílio às plantas em respostas combinadas como, alterações na sinalização do ácido abscísico (ABA), que também influencia na colonização dos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), formando um complexo cada vez mais estudado. O Cerrado, rico em biodiversidade e potencial agrícola, apresenta hipersazonalidade climática, que permite a exposição das plantas ao déficit hídrico. Neste contexto, está o baru (*Dipteryx alata* Vogel), arbórea frutífera nativa desse bioma, da qual são obtidos inúmeros produtos, madeireiros e não madeireiros, sendo uma das espécies nativas mais promissoras para cultivo. A obtenção de mudas com qualidade é fundamental para que esse potencial seja alcançado, o que torna necessário entender seu comportamento diante da escassez de água e do complexo ABA-MA. Assim, objetivamos avaliar o déficit hídrico associado à micorrizas arbusculares e ácido abscísico no metabolismo e crescimento inicial de mudas de *D. alata*. Para isso, realizamos dois ensaios, sendo o primeiro, a fim de avaliar mudas de *D. alata* cultivadas sob regimes hídricos (controle: mudas irrigadas diariamente, e déficit hídrico: suspensão da irrigação) associados à inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs): SM – sem inoculação; M1 - inoculação com *Rhizoglyphus heterosporum*; M2 - *Rhizoglyphus clarum*; e MO (*On farm*) – mistura de espécies sem a presença das M1 e M2, em dois experimentos comparados: aplicação exógena de ácido abscísico 50  $\mu$ M (ABA+) e sem aplicação (ABA-). Após suspensão da irrigação, foi monitorada diariamente a taxa fotossintética, até a detecção das primeiras mudas com valores próximos à zero, caracterizando a primeira época de avaliação dos experimentos: F – fotossíntese zero (7 dias da suspensão da irrigação), quando foi retomada a irrigação, e R: recuperação - 100 dias após F. As mudas de *D. alata* exibiram menor potencial hídrico sob déficit hídrico, que também prejudicou as trocas gasosas e causou danos ao fotossistema II. Entretanto, a espécie apresentou resiliência, equilibrando suas relações hídricas, ajustando metabolismo fotossintético e crescimento. A inoculação, especialmente, com *R. clarum* e *R. heterosporum*, auxiliou as mudas a diminuir a perda de água, mantendo o conteúdo relativo desta, aumentando assim, a taxa fotossintética e evitando danos irreversíveis no fotossistema II, o que levou à maior qualidade de mudas. O ABA exógeno aplicado no substrato, apresenta efeito direto e benéfico na colonização dos FMAs, mas não influencia suficientemente para causar efeito indireto na tolerância das mudas de *D. alata* ao déficit hídrico. O segundo ensaio teve como finalidade principal, a qualidade das mudas, que foram cultivadas sob os mesmos regimes hídricos, porém sem aplicação de ABA e inoculadas ou não com *R. clarum* (MA+). O déficit hídrico prejudicou as relações hídricas como, potencial hídrico e eficiência no uso da água (EUA). Contudo, nas mudas MA+, além de apresentaram incrementos na razão de área

foliar: massa seca total, índice de clorofila e eficiência da carboxilação da Rubisco ( $A/C_i$ ), garantiu aumento na qualidade de mudas de *D. alata*. A aplicação exógena de ABA potencializa a colonização de FMAs em *D. alata*, sendo que a inoculação com FMAs auxilia na resiliência das mudas ao déficit hídrico, formando mudas com maior qualidade.

**Palavras-chave:** baru; estresse hídrico; fungos micorrízicos arbusculares; regulador vegetal; resiliência.

## GENERAL ABSTRACT

JESUS, Maílson Vieira. **Drought stress associated with arbuscular mycorrhizal and abscisic acid in photosynthetic metabolism and initial growth of *Dipteryx alata* Vogel seedlings.** 2020. 109f. Tese (Doutorado em Agronomia/Produção Vegetal) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados - MS.

The water deficit has been more frequent with climate changes and due to inadequate soil use practices, influencing the patterns of rainfall distribution and the water absorption capacity by plants. Plants develop acclimatization and adaptation mechanisms to ensure their survival in adverse conditions. In this sense, arbuscular mycorrhizal symbiosis (AM) plays an important role in helping plants in combined responses such as changes in abscisic acid (ABA) signaling, which also influences the colonization of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), forming a complex each increasingly studied. The Cerrado, rich in biodiversity and agricultural potential, presents climatic hyperseasonality, which allows plants to be exposed to water deficit. In this context, there is baru (*Dipteryx alata* Vogel), a fruit tree native to this biome, from which countless products are obtained, wood and non-wood, being one of the most promising native species for cultivation. Obtaining quality seedlings is essential for this potential to be achieved, which makes it necessary to understand their behavior in the face of water scarcity and the ABA-AM complex. Thus, we aim to evaluate the water deficit associated with arbuscular mycorrhizae and abscisic acid in the metabolism and initial growth of *D. alata* seedlings. For this, we carried out two tests, the first one, in order to evaluate *D. alata* seedlings grown under water regimes (control: seedlings irrigated daily, and water deficit: suspension of irrigation) associated with inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF): SM - without inoculation; M1 - inoculation with *Rhizoglyphus heterosporum*; M2 - *Rhizoglyphus clarum*; and MO (*On farm*) - mixture of species without the presence of M1 and M2, in two compared experiments: exogenous application of 50  $\mu\text{M}$  abscisic acid (ABA+) and without application (ABA-). After suspension of irrigation, the photosynthetic rate was monitored daily, until the detection of the first seedlings with values close to zero, characterizing the first time of evaluation of the experiments: F - zero photosynthesis (7 days after irrigation suspension), when the irrigation, and R: recovery - 100 days after F. *D. alata* seedlings showed less water potential under water deficit, which also impaired gas exchange and caused damage to photosystem II. However, the species showed resilience, balancing its water relations, adjusting photosynthetic metabolism and growth. Inoculation, especially with *R. clarum* and *R. heterosporum*, helped the seedlings to reduce water loss, maintaining its relative content, thus increasing the photosynthetic rate and avoiding irreversible damage in photosystem II, which led to higher quality of seedlings. The exogenous ABA applied to the substrate, has a direct and beneficial effect on the colonization of AMF, but does not influence enough to cause an indirect effect on the tolerance of *D. alata* seedlings to water deficit. The second test had as its main purpose, the quality of the seedlings, which were grown under the same water regimes, but without application of ABA and inoculated or not with *R. clarum* (AM+). The water deficit impaired water relations such as water potential and water use efficiency (WUE). However, in the AM+ seedlings, in addition to showing

increases in the leaf area ratio: total dry mass, chlorophyll index and efficiency of the Rubisco ( $A/C_i$ ) carboxylation, it guaranteed an increase in the quality of *D. alata* seedlings. The exogenous application of ABA enhances the colonization of AMF in *D. alata*, and inoculation with AMF helps in the resilience of seedlings to water deficit, forming seedlings with higher quality.

**Key-words:** baru; water stress; arbuscular mycorrhizal fungi; plant regulator; resilience.

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O Cerrado contém cerca de 2 milhões de km<sup>2</sup>, representando 23% do território nacional. Portanto, como segundo bioma em extensão, é um dos protagonistas pela liderança do Brasil, nos trópicos, da díade biodiversidade e potencial agrícola. Sua fitofisionomia é caracterizada pela diversidade de habitats, que comportam recursos naturais renováveis com elevado número de plantas nativas e endêmicas. Dentre estas, destacam-se as espécies arbóreas frutíferas, devido ao seu potencial ecológico, econômico e alimentício podendo contribuir nos serviços ecossistêmicos e socioeconômicos. (OLIVEIRA et al., 2015; CÂNDIDO et al., 2016; DURIGAN et al., 2018).

Entretanto, a hipersazonalidade encontrada no Cerrado brasileiro, caracterizando duas estações bem definidas (seca e chuvosa) (PALHARES et al., 2010; DURIGAN et al., 2018), permite a exposição das plantas ao déficit hídrico em certos períodos do ano. Este cenário pode ainda, ser agravado pelas mudanças climáticas, que alterariam as adaptações pré-existentes das espécies nativas do bioma, sendo obrigadas a desenvolverem novas estratégias de sobrevivência.

Além disso, a exploração dessas espécies, em sua grande parte, ocorre indiscriminadamente, o que resulta em níveis ameaçadores à extinção, sendo a falta de informações básicas à aplicadas, o ponto de partida para a cascata de efeitos deletérios das práticas não sustentáveis de seu manejo. Portanto, gerar conhecimento com estudos que observam a importância e o potencial das frutíferas do Cerrado é de extrema importância para garantir a biodiversidade e promover novos nichos de mercado com produtos e serviços de valores agregados.

### 1.1 Déficit hídrico em plantas

As plantas estão em constante interação com os componentes bióticos e abióticos do ambiente em que se encontram. Quando as condições ambientais alteram além do ideal, o crescimento ou desenvolvimento da planta, ocorre estresse ou fator de estresse (LEVITT, 1980; LARCHER, 1987). Por sua vez, as plantas respondem aos fatores de estresse de maneira total (estresse não estabelecido) ou inferior (em estado de estresse). O ambiente estressante, portanto, é caracterizado quando ocorrem diferenças entre potenciais ambientais e do interior das plantas, a ponto de levar a uma resposta de estresse (SALISBURY e ROSS, 2012).

Neste contexto, o déficit hídrico é considerado um dos principais estresses abióticos que restringe o rendimento vegetal como um todo. A seca, como fator de estresse por déficit nas plantas tem suas causas multifatoriais, complexas e dinâmicas, incluindo períodos de estiagem ou redução nas precipitações, temperaturas altas e baixas, alta intensidade de luz e vento seco, entre outros. Além disso, ainda que as quantidades de água sejam suficientes, as características próprias de resposta à água disponível ou uso, manejo e conservação do solo influenciam na capacidade de absorção da água pelas plantas (SALEHI-LISAR e BAKHSHAYESHAN-AGDAM, 2016).

As mudanças climáticas decorrentes de causas naturais e/ou pela ação antrópica, podem aumentar os níveis de CO<sub>2</sub> atmosférico e de temperatura, alterando os padrões na distribuição das chuvas, aumentando as frequências e alongando os períodos de secas, o que eleva a probabilidade do déficit hídrico nas plantas e, portanto, estão se tornando o principal fator desencadeador desse estresse no mundo (DAI, 2012; RANA et al., 2013). De acordo com o Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (IBGE, 2019), quando ocorrem quedas na produção, envolvendo toda a cadeia, a seca e consequentemente, o déficit hídrico aparecem, obrigatoriamente, como fatores responsáveis pela menor produtividade das culturas. Não por acaso, este, tem sido tema central de debates multidisciplinares, uma vez que é questão ambiental, política e econômica, da qual a agricultura é o elemento central.

Uma vez que o fluxo de água nas plantas encontra-se em desequilíbrio, ao ponto de caracterizar o déficit hídrico, seus efeitos multifacetados serão de ordem anatômica, morfológica, bioquímica e fisiológica (LOPES e LIMA, 2015). De maneira geral, a soma das alterações nas relações hídricas - conteúdo de água na planta, oscilações estomáticas, transpiração – com as de transporte e permeabilidade das membranas celulares, resultará em distúrbios de funções metabólicas como fotossíntese, respiração, nutrição mineral, balanço hormonal, entre outros.

Com igual complexidade, as plantas desenvolvem mecanismos, que balanceados, garantem sobrevivência ao déficit hídrico, como as respostas por meio da plasticidade fenotípica (aclimatação) ou herdando características genéticas de seleção (adaptação). As adaptações das plantas são classificadas em escape, relacionado às alterações no ciclo de vida, desenvolvimento fenológico, e resistência. A resistência ainda é dividida em plantas que evitam o déficit, caracterizado pelo aumento no *status* hídrico, associado à redução da perda ou manutenção/aumento da absorção de água, e tolerância

com regulações à níveis citoplasmáticos (LEVITT, 1980; LARCHER, 2000; TAIZ et al., 2017).

## 1.2 Micorrizas arbusculares e déficit hídrico

A adequada absorção de água e nutrientes, sob condições de déficit hídrico, está relacionada à maior eficiência funcional dos órgãos subterrâneos. Nesse sentido, a colonização radicular por fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) têm sido cada vez mais estudada pelo seu importante papel nas respostas das plantas ao déficit hídrico, combinando estratégias de prevenção e tolerância (AUGÉ, 2001; RAPPARINI e PEÑUELAS, 2014). O significado literal do termo micorriza - "mico" significa "fungo" e "riza" significa "raiz" - reflete o significado comum, isto é, um fungo que interage ou habita as raízes (HAMEED et al., 2014). Uma micorriza arbuscular (MA) implica numa associação simbiótica entre planta e fungos do filo Glomeromycota, na qual os fungos penetram nas células corticais da raiz de uma planta vascular, obtendo produtos fotossintéticos e, por sua vez, facilitam, principalmente, a capacidade de absorção de água e nutrientes.

Curiosamente, a maioria das plantas terrestres é capaz de estabelecer simbiose MA (HELGASON e FITTER, 2009). Estima-se que entre 80 a 90% de todas as plantas terrestres formam esse tipo de associação. A associação MA pode ser rastreada há mais de 460 milhões de anos, o que corresponde ao início da colonização de habitats terrestres por plantas (BUSCOT, 2015). As principais estruturas morfológicas dos FMAs são: os arbúsculos, formados entre a parede celular e a membrana plasmática das células corticais, responsáveis pela troca entre os simbiontes hifas extraradiciais, as quais funcionam como extensão à zonas e poros, normalmente, alcançado pelas raízes; e as vesículas que são estruturas de armazenamento lipídico (SOUZA, 2015).

A relação das MAs com o déficit hídrico nas plantas é caracterizada pelo envolvimento da simbiose em processos fisiológicos e bioquímicos, que incluem: interceptação e absorção de água e nutrientes; aumento de ajuste osmótico; melhor eficiência de trocas gasosas e uso da água; e proteção contra danos oxidativos (LATEF et al., 2016). Também foram encontrados resultados de maior potencial hídrico das folhas, aumento na condutância estomática, transpiração e taxas fotossintéticas e, do ponto de vista físico, maior espessura e comprimento da raiz, área foliar e acúmulo de biomassa (KUMAR et al., 2017).

### **1.3 Relação ácido abscísico, micorrizas arbusculares e déficit hídrico.**

Algumas das respostas de tolerância das plantas ao estresse hídrico, mediadas pelas MAs, podem estar relacionadas às alterações na homeostase hormonal, especialmente, na sinalização do ácido abscísico (ABA) (FESTER e HAUSE, 2007). Este fitormônio tem sua biossíntese rapidamente induzida a partir da detecção, pela planta, do fator estressante (OSAKABE et al., 2014), regulando a condutividade hidráulica, taxa de transpiração, além da indução de genes de enzimas e proteínas de tolerância à desidratação celular (HIRAYAMA e SHINOZAKI, 2007). O ABA está intimamente ligado ao fechamento estomático que ocorre quando há o menor potencial hídrico, modulando as trocas gasosas foliares (PELEG e BLUMWALD, 2011; KOWITCHAROEN et al., 2015). Em condições de déficit hídrico, o ABA estimula a emergência de raízes laterais e aumenta a razão raiz/parte aérea (FAGAN et al., 2015).

A relação ABA-MA é via de mão dupla, em que o ABA participa no processo de estabelecimento da simbiose, ao passo que as MAs influenciam nos níveis endógenos do fitormônio. Herrera-Medina et al. (2007) verificaram que o ABA é necessário para completar no processo de formação de arbúsculos e está envolvido também, na sua funcionalidade adequada, promovendo maior susceptibilidade à infecção de FMAs para uma colonização sustentada das raízes (MARTÍN-RODRÍGUES et al. 2011). Augé (2001) em sua revisão, verificou em plantas micorrizadas de várias espécies de diferentes famílias, sob seca, níveis menores de ABA na parte aérea e maiores nas raízes. Isto ratifica a importância do ABA como sinalizador para o reconhecimento planta-FMA e seu efeito em parâmetros fotossintéticos melhorados (FESTER e HAUSE, 2007).

Contudo, não se pode esperar um padrão com respostas repetidas, afinal a relação entre déficit hídrico, plantas, FMAs e ABA pode ser no mínimo complexa, sendo influenciada por diversos fatores como, características edafoclimáticas dos ambientes, intensidades, durações, espécies, genótipos, entre outros. Por isso são importantes estudos que auxiliem na elucidação dessas interações.

### **1.4 Contextualização da *Dipteryx alata* Vogel (Fabacea)**

Inserido neste contexto, está o baru (*Dipteryx alata* Vogel), arbórea frutífera nativa do Cerrado, pertencente à família Fabaceae, também conhecida popularmente por cumaru, cumbaru, coco-barata e *tonkabean*s (no exterior) (SANO et al., 2004).

Classificada como secundária tardia, com ampla distribuição irregular no território brasileiro, envolvendo estados como, Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais, Tocantins e Bahia (LORENZI, 2008). Ocorre preferencialmente, em locais com solos bem drenados, de textura arenoargilosas e média fertilidade. Em relação à fitofisionomia, ocorre no Cerrado *strictu sensu*, transições entre cerrado e matas estacionais ou de galeria, porém preferencialmente, em cerradões (FELFILI et al., 2002; VERA et al., 2009).

A árvore da *D. alata* possui altura média de 15 metros, podendo alcançar 25 metros e copa densa, sendo empregada no paisagismo e sombreamento de pastagens. O tronco apresenta cor cinza clara ou creme, podendo ser liso ou com placas descamantes. A madeira compacta de alta densidade ( $1,1\text{g/cm}^3$ ) e durabilidade, além da elevada resistência ao ataque de fungos e cupins, sendo utilizada na fabricação de carvão vegetal, instalação de cercas (moirões), indústria moveleira e construção civil (LORENZI, 2008; CARRAZZA e D'ÁVILA, 2010; SANO et al., 2016). A época de floração ocorre de outubro a janeiro e o amadurecimento dos frutos entre março e agosto (ISA, 2009), produzindo cerca de 2000 a 6000 frutos por árvore (SILVA et al., 2008). O fruto é do tipo drupa, marrom, com médias de 4,5 cm de comprimento, 3,0 cm de largura e 28,5 g de massa. Apresenta uma única semente elipsoide, sendo a massa de sementes 0,9 a 1,6 g, o comprimento de 1 a 2,6 cm e a largura de 0,9 a 1,3cm. A cor do tegumento varia de amarelada, avermelhada a quase preto (SANO et al., 2016). A polpa e amêndoa in natura ou processadas, ricas em amido, fibras, açúcares, macro e micronutrientes, proteínas, ácidos oleico, linoleico e fenóis, são utilizadas na alimentação humana e animal, com propriedades medicinais e cosméticas (LEMOS et al., 2012; SIQUEIRA et al., 2012; BONI et al., 2020).

Somado à essa gama de usos, a *D. alata* foi destacada dentre 116 espécies arbóreas nativas, sendo uma das mais promissoras para a utilização em sistemas agroflorestais e em projetos de reflorestamento para recuperação de áreas degradadas (POTT e POTT, 2003). A espécie está entre as dez plantas nativas do Cerrado brasileiro mais promissoras para o cultivo comercial como floresta plantada, também em outras regiões (SOARES et al., 2008). Ainda, Padovan et al. (2018), verificaram as maiores densidades, frequências e dominâncias de *D. alata* em sistemas agroflorestais no Cerrado e Amazônia dentre 30 e 45 espécies, respectivamente. Não obstante, a espécie encontra-se em risco de extinção devido à exploração indiscriminada (CARRAZZA e D'ÁVILA, 2010), decorrente muitas vezes, da falta de informações e incentivos para a sua produção,

como observado por Matos et al. (2018), que as informações encontradas sobre *D. alata* e estresse hídrico são ainda insuficientes para garantir retorno financeiro no campo.

A obtenção de mudas de *D. alata* com qualidade é fundamental, para que todo esse potencial apresentado pela espécie, seja alcançado com sucesso. Visto que a frequência e intensidade do déficit hídrico nas plantas, está cada vez mais se tornando realidade global, e que a demanda por cultivos mais sustentáveis tem aumentado, a utilização da inoculação com FMAs como técnica de manejo, pode ser promissora no cumprimento desses desafios. Para isso, se faz necessário entender através de investigações, seus processos e fatores de influência, como o ABA, para projetar estratégias otimizadas de aplicação no cultivo de *Dipteryx alata*.

## 2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AUGÉ, R. M. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Mycorrhiza**, v. 11, n. 1, p. 3-42, 2001.
- BONI, T. S.; MALTONI, K. L.; MIZOBATA, K. K. G. S da. *Dipteryx alata* seedlings nutritional status in a recovery area in the Brazilian Savannah. **Floresta e Ambiente**, v. 27, n. 2, 2020.
- BUSCOT, F. Implication of evolution and diversity in arbuscular and ectomycorrhizal symbioses. **Journal of Plant Physiology**, v. 172, p. 55-61, 2015.
- CÂNDIDO, J. B.; LIMA, D. P.; TEIXEIRA, P. R.; SOUZA, P. B. Florística do estrato arbustivo-arbóreo de uma área de Cerrado *sensu stricto*, Gurupi, Tocantins. **Enciclopédia Biosfera**, v. 13, n. 24, p. 17-45, 2016.
- CARRAZZA, L.; ÁVILA, J. **Manual Tecnológico de Aproveitamento Integral do Fruto do Baru**. 2. ed. Brasília: Instituto Sociedade, População e Natureza, 2010. 56p.
- DAI, A. Drought under global warming: a review. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Climate Change**, v. 2, n. 1, p. 45-65, 2011.
- DURIGAN, G.; PILON, N. A. L.; ASSIS, G. B.; SOUZA, F. M.; BAITELLO, A. A. **Plantas pequenas do Cerrado: biodiversidade negligenciada**. 1. ed. – São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente. 2018. 720 p.
- FAGAN, E. B.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D.; JÚNIOR, A. C.; NETO, D. D. **Fisiologia vegetal: reguladores vegetais**. Piracicaba: Andrei. 2015. 300p.
- FELFILI, J.M.; NOGUEIRA, P.E.; SILVA-JUNIOR, M.C. Composição florística e fitossociologia do Cerrado sentido restrito no município de Agua Boa-MT. **Acta Botanica Brasilica**, v. 16, n. 1, p. 103-112, 2002.
- FESTER, T.; HAUSE, B. Drought and symbiosis: why is abscisic acid necessary for arbuscular mycorrhiza?. **New Phytologist**, v. 175, p. 383-386, 2007.
- HAMEED A.; WU, Q. S. ABD-ALLAH, E. F.; HASHEN, A.; KUMAR, A.; LONE, H. A.; AHMAD, P. Role of AM fungi in alleviating drought stress in plants. In: MIRANSARI M. (Ed.). **Use of microbes for the alleviation of soil stresses**. New York: Springer. 2014. pp. 55-75.
- HELGASON, T.; FITTER, A. H. Natural selection and the evolutionary ecology of the arbuscular mycorrhizal fungi (*Phylum Glomeromycota*). **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 9, p. 2465-2480, 2009.
- HERRERA-MEDINA, M. J.; STEINKELLNER, S.; VIERHEILIG, H.; BOTE, J. A. O.; GARRIDO, J. M. G. Abscisic acid determines arbuscule development and functionality in the tomato arbuscular mycorrhiza. **New Phytology**, vol. 175, n. 3, p. 554-564, 2007.

HIRAYAMA, T.; SHINOZAKI, K. Perception and transduction of abscisic acid signals: keys to the function of the versatile plant hormone ABA. **Trends in Plant Science**, v. 12, n. 8, p. 343-351, 2007.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da produção agrícola: Estatística da produção agrícola**. Rio de Janeiro: v. I, 2019.

Isa - Instituto Socioambiental. Mangaba. In: CAMPOS F. E. M. **Plante as árvores do Xingu e Araguaia: guia de identificação**. vol. 2. São Paulo: Instituto Socioambiental. 2009. 304p.

KOWITCHAROEN, L.; WONGS-AREE, C.; SETHA, S.; KOMKHUNTOD, R.; SRILAONG, V.; KONDO, S. Changes in abscisic acid and antioxidant activity in sugar apples under drought conditions. **Scientia Horticulturae**, v. 193, p. 1-6, 2015.

KUMAR, M.; PRASSAD, R.; KUMAR, V.; TUTEJA, N.; VARMA, A. Mycorrhizal fungi under biotic and abiotic stress. In: VARMA, A; PRASSAD, R.; TUTEJA, N. (Eds.). **Mycorrhiza - Eco-Physiology, Secondary Metabolites, Nanomaterials**. 4 ed. Cham: Springer. 2017. pp. 57-69.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa, 2000. 531p.

LATEF, A. A. H. A.; HASHEM, A.; RASOOL, S.; ABD\_ALLAH, E. F.; ALQARAWI, A. A.; EGAMBERDIEV, D.; JAN, S.; ANJUM, N. A.; AHMAD, P. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and abiotic stress in plants: a review. **Journal of Plant Biology**, v. 59, n. 5, p. 407-426, 2016.

LEMOS, M. R. B.; SIQUEIRA, E. M. A.; ARRUDA, S. F.; ZAMBIAZI, R. C. The effect of roasting on the phenolic compounds and antioxidant potential of baru nuts (*Dipteryx alata* Vog.). **Food Research International**, v. 48, n. 2, p. 592-597, 2012.

LEVITT, J. **Response of plants to environment stress: Water radiation, salt and other stress**. New York: Academic Press, 1980, v. 1, 606p.

LOPES, N. F.; LIMA, MG de S. **Fisiologia da produção**. Viçosa: Editora UFV, 2015. 492p.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 5. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 368p.

MARTÍN-RODRÍGUEZ, J. Á. LEÓN-MORCILLO, R.; VIERHEILIG, H.; OCAMPO, J. A.; LUDWIG-MÜLLER, J.; GARCÍA-GARRIDO, M. Ethylene-dependent/ethylene-independent ABA regulation of tomato plants colonized by arbuscular mycorrhiza fungi. **New Phytologist**, v. 190, n. 1, p. 193-205, 2011.

MATOS, F. S.; FREITAS, I. A. S.; SANTOS, L. V. B dos.; VENÂNCIO, D. G.; SILVEIRA, P. S. da. Initial growth of *Dipteryx alata* plants under water deficit. **Revista Árvore**, v. 42, n. 1, p. 1-8, 2018.

OLIVEIRA, C. P.; FRANCELINO, M. R.; CYSNEIROS, V. C.; ANDRADE, F. C.; BOOTH, M, C. Composição florística e estrutura de um Cerrado *sensu stricto* no oeste da Bahia. **Cerne**, v. 21, n. 4, p. 545-552, 2015.

OSAKABE, Y.; OSAKABE, K.; SHINOZAKI, K.; TRAN, L. S. P. Response of plants to water stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, p. 86, 2014.

PADOVAN, M. P.; PEREIRA, Z. V.; FERNANDES, S. S. L. Espécies arbóreas nativas pioneiras em sistemas agroflorestais biodiversos. **Revista GeoPantanal**, v. 13, n. 24, p. 53-68, 2018.

PALHARES, D.; FRANCO, A. C.; ZAIDAN, L. B. P. Respostas fotossintéticas de plantas de Cerrado nas estações seca e chuvosa. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, n. 2, p. 213-220, 2010.

PELEG, Z.; BLUMWALD, E. Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 14, n. 3, p. 290-295, 2011.

POTT, A.; POTT, V. J. **Plantas nativas potenciais para sistemas agroflorestais em Mato Grosso do Sul**. In: Seminário Sistemas Agroflorestais E Desenvolvimento Sustentável, 2003, Campo Grande, MS. [Anais...]. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte: Finep, 2003. 1 CD-ROM.

RANA, R. M.; REHMAN, S. U.; AHMED, J.; BILAL, M. A comprehensive overview of recent advances in drought stress tolerance research in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Asian Journal of Agriculture and Biology**, v. 1, p. 29-37, 2013.

RAPPARINI, F.; PEÑUELAS, J. Mycorrhizal fungi to alleviate drought stress on plant growth. In: MIRANSARI M. (Ed.). **Use of microbes for the alleviation of soil stresses**. New York: Springer. 2014. pp. 21-42.

SALEHI-LISAR, S. Y.; BAKHSHAYESHAN-AGDAM, H. Drought stress in plants: causes, consequences, and tolerance. In: HOSSAIN M.; WANI S.; BHATTACHARJEE S.; BURRITT D.; TRAN LS. (Eds.). **Drought Stress Tolerance in Plants**, Vol 1. Cham: Springer. 2016. pp. 1-16.

SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. **Fisiologia das Plantas**. 4ª Edição, Cengage Learning, 2012. 858 p.

SANO, S. M.; BRITO, M. A.; RIBEIRO, J. F. *Dipteryx alata*: Baru. In: VIEIRA, R. F.; CAMILLO, J.; CORADIN, L. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: Região Centro-Oeste**. Brasília, DF: MMA. 2016. pp. 203-215.

SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F.; BRITO, M. A. **Baru**: biologia e uso. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados. 2004. 52 p.

SILVA, F. A. M.; ASSAD, E. D.; EVANGELISTA, B. A. Características climática do bioma Cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P.; RIBEIRO, J. F. (Eds.). **Cerrado: ecologia e flora**. Planaltina: Embrapa Cerrado, 2008. 69-88pp.

SIQUEIRA E. M.A.; MARIN, A. M. F.; CUNHA, M. S. B.; FUSTINONI, A. M. SANT'ANA, L. P.; ARRUDA, S. F. Consumption of baru seeds [*Dipteryx alata* Vog.], a Brazilian savanna nut, prevents iron-induced oxidative stress in rats. **Food Research International**, v. 45, n. 1, p. 427-433, 2012.

SOARES, T. N.; CHAVES, J. L.; TELLES, M. P. C, DINIZ-FILHO, J. A. F.; RESENDE, L. V. Spatial distribution of intrapopulational genetic variability in *Dipteryx alata*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 9, p. 1151-1158, 2008.

SOUZA, T. **Handbook of arbuscular mycorrhizal fungi**. Cham: Springer, 2015. 165p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858p.

VERA, R.; SOARES JUNIOR, M. S.; NAVES, R. V.; SOUZA, E. R. B.; FERNANDES, E. P.; CALIARI, M.; LEANDRO, W. M. Características químicas de amêndoas de barueiros (*Dipteryx alata* Vog.) de ocorrência natural no Cerrado do Estado de Goiás, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 1, p. 112- 118, 2009.

## **CAPÍTULO I**

### **EXPLORANDO O COMPLEXO ÁCIDO ABSCÍSICO- MICORRIZA ARBUSCULAR EM MUDAS DE *Dipteryx alata* Vogel SOB DÉFICIT HÍDRICO**

## RESUMO

JESUS, Maílson Vieira. **Capítulo I:** Explorando o complexo ácido abscísico-micorriza arbuscular em mudas de *Dipteryx alata* Vogel sob déficit hídrico. 2020. 109f. (Doutorado em Agronomia/Produção Vegetal) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados – MS.

O déficit hídrico é um dos principais estresses abióticos que afeta o crescimento e desenvolvimento vegetal. Dentre as estratégias das plantas, encontram-se a biossíntese de ácido abscísico (ABA) e a simbiose micorriza arbuscular (MA). O Cerrado, como *hotspots* mundial, apresenta hipersazonalidade climática possibilitando o déficit hídrico. A *Dipteryx alata* Vogel está entre as arbóreas do Cerrado mais promissoras para cultivo. Portanto, a compreensão da Ecofisiologia e relações da *D. alata* com os componentes do meio é fundamental para o manejo dessa espécie. Objetivamos avaliar o metabolismo e crescimento inicial de mudas de *D. alata* cultivadas sob regimes hídricos (controle: mudas irrigadas diariamente, e déficit hídrico: com suspensão da irrigação) associados à inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs): SM – sem inoculação; M1 - inoculação com *Rhizogloium heterosporum*; M2 - *Rhizogloium clarum*; e MO – *On farm* – mistura de espécies sem a presença das M1 e M2), em dois experimentos comparados: aplicação exógena de ácido abscísico 50  $\mu\text{M}$  (ABA+) e sem aplicação (ABA-). As avaliações foram realizadas em duas épocas (F: fotossíntese zero - 7 dias da suspensão da irrigação e R: recuperação - 100 dias após F). As mudas de *D. alata* apresentaram menor potencial hídrico sob déficit hídrico (F), que também prejudicou as trocas gasosas e causou danos ao fotossistema II. Entretanto, em R, a espécie apresentou resiliência, equilibrando suas relações hídricas, ajustando metabolismo fotossintético e o crescimento das mudas. Na avaliação F, verificamos que a inoculação com *R. clarum* e *R. heterosporum*, auxiliou as mudas a reduzirem a perda de água, mantendo o conteúdo relativo de água e ao final das avaliações (R), houve aumento da taxa fotossintética, a qual evitou os danos irreversíveis no fotossistema II e conseqüentemente, possibilitou maior qualidade de mudas. O ABA exógeno aplicado no substrato, apresenta efeito direto e benéfico na colonização dos FMAs.

**Palavras-chave:** baru; estresse hídrico; fungos micorrízicos arbusculares; *Rhizogloium clarum*; regulador vegetal.

## ABSTRACT

JESUS, Maílson Vieira. **Chapter I:** Exploring the abscisic acid-arbuscular mycorrhiza complex in *Dipteryx alata* Vogel seedlings under drought stress. 2020. 109f. (Doutorado em Agronomia/Produção Vegetal) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados – MS.

The drought stress is one of the main abiotic stresses that affects plant growth and development. Among the plants strategies, there are abscisic acid biosynthesis (ABA) and arbuscular mycorrhizal symbiosis (AM). The Cerrado, as a global hotspot, presents climatic hyperseasonality, making possible the drought stress. *Dipteryx alata* Vogel is among the most promising Cerrado trees for cultivation. Therefore, the understanding of *D. alata* Ecophysiology and relations with the components of the environment is fundamental for the management of this species. We aimed to evaluate the metabolism and initial growth of *D. alata* seedlings grown under water regimes (control: seedlings irrigated daily, and drought: with irrigation suspension) associated with inoculation arbuscular mycorrhizal fungi (FMAs): SM - without inoculation; M1 - inoculation with *Rhizoglyphus heterosporum*; M2 - *Rhizoglyphus clarum*; and MO - *On farm* - mixture of species without the presence of M1 and M2), in two compared experiments: exogenous application of 50  $\mu$ M abscisic acid (ABA+) and without application (ABA-). The evaluations were carried out in two seasons (F: zero photosynthesis - 7 days after irrigation suspension and R: recovery - 100 days after F). *D. alata* seedlings showed less water potential under water deficit (F), which also impaired gas exchange and caused damage to photosystem II. However, in R, the species showed resilience, balancing its water relations, adjusting photosynthetic metabolism and seedling growth. In the F evaluation, we found that inoculation with *R. clarum* and *R. heterosporum*, helped the seedlings to reduce water loss, maintaining the relative water content and at the end of the evaluations (R), there was an increase in the photosynthetic rate, which avoided the irreversible damage in photosystem II and, consequently, made possible higher quality of seedlings. Exogenous ABA applied to the substrate has a direct and beneficial effect on the AMFs colonization.

**Key-words:** baru; water stress; arbuscular mycorrhizal fungi; *Rhizoglyphus clarum*; plant regulator.

## 1 INTRODUÇÃO

A seca, na definição geral do termo, é causada por inúmeros fatores que podem formar um ambiente de estresse às plantas e a depender das respostas dessas à tais fatores e condições, ocasionar o déficit hídrico. Este, considerado um dos principais estresses abióticos, resulta em distúrbios de funções metabólicas, afetando o crescimento e desenvolvimento vegetal. Além disso, mesmo que as quantidades de água sejam suficientes, as características próprias ou uso, manejo e conservação do solo influenciam na capacidade de absorção da água pelas plantas (SALEHI-LISAR e BAKHSHAYESHAN-AGDAM, 2016).

Seja por causas naturais globais e/ou pela ação antrópica, as mudanças climáticas, estão se tornando o principal fator desencadeador de estresse hídrico no mundo, com aumentos dos níveis de CO<sub>2</sub> atmosférico e temperaturas, os padrões de distribuição das chuvas são alterados, aumentando as frequências e alongando os períodos de secas (DAI, 2012; RANA et al., 2013).

Dentre as possibilidades estratégicas das plantas sob déficit hídrico, a biossíntese de ácido abscísico (ABA), que regula o crescimento e outros processos relevantes para a melhoria das relações hídricas nas plantas, e a simbiose entre plantas e fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), ou simplesmente, micorriza arbuscular (MA), têm sido alvos de investigações. Por ocorrer há mais de 460 milhões de anos e em mais de 80% das plantas terrestres (REDECKER et al., 2000), a MA é entendida como adaptação das plantas, combinando respostas de prevenção e tolerância (resistências) ao estresse hídrico (AUGÉ, 2001; RAPPARINI e PEÑUELAS, 2014). Ambas estratégias estão envolvidas em processos bioquímicos e fisiológicos, incluindo captação e transporte de água e nutrientes; regulação osmótica; trocas gasosas; transpiração, fotossíntese, além da indução de genes relacionados a codificação de proteínas e enzimas de tolerância à seca (RUIZ-LOZANO et al., 2012; HOSSAIN et al., 2016; LÓPEZ-RÁEZ, 2016).

A consequência destes conhecimentos, despertou interesse na relação ABA-MA, como investigado por Herrera-Medina et al. (2007) e, mais recentemente, revisado por Mine (2019). Os esforços realizados, mostraram que, de fato, esta interação ocorre tanto no sentido do ABA desempenhando papel na formação e funcionamento da simbiose quanto da MA regulando a via de sinalização do ABA, que foi proposto como instrumento não nutricional, pelo qual a MA estimula caracteres fisiológicos, por exemplo, condutância estomática, em plantas submetidas ao estresse (FESTER e

HAUSE, 2007; DOUBKOVÁ et al., 2013). Para obter essas informações, muitas vezes utiliza-se da aplicação exógena de ABA, inoculação e comparação entre inóculos de FMAs, o que além de auxiliar no conhecimento dos processos, também podem servir como técnicas de manejo de tolerância nos cultivos de espécies em ambientes que podem expô-las ao déficit hídrico, como é o caso do Cerrado.

O Cerrado, bioma considerado um dos *hotspots* de biodiversidade mundial. Conta com uma das maiores diversidades de flora do mundo e a maior da América do Sul, distribuídas em diferentes fitofisionomias, sendo também considerado a última fronteira agrícola do planeta. Toda essa riqueza está sob uma hipersazonalidade, que caracteriza duas estações bem definidas (seca e chuvosa) (PALHARES et al., 2010; DURIGAN et al., 2018), o que pode ocasionar déficit hídrico para as plantas em certos períodos do ano.

Além disso, a cobertura vegetal original acumula cerca de 50% de perda, devido, principalmente, à ação antrópica, urbanismo, agropecuária e incêndios (MMA, 2018). Com isso, aumenta-se a demanda de esforços na mitigação do desmatamento e da degradação da vegetação nativa, conservando ou recompondo a biodiversidade, combinadas com exploração sustentável dessas espécies. Para tal, é necessário identificar e conhecer os processos de representantes florísticos que favoreçam a sobrevivência em condições hídricas desfavoráveis, mas que também representem características de interesse para sua produção.

Dentre as arbóreas do Cerrado mais promissoras para cultivo também em outras regiões, encontra-se a *Dipteryx alata* Vogel, da família Fabaceae. Conhecida popularmente como baru, apresenta fácil aclimatação à solos distintos, possui alta taxa de germinação e mudas com bom estabelecimento (SOARES et al., 2008). Seus frutos de polpa carnuda, são uns dos poucos encontrados na estação seca, dos quais se extrai a amêndoa, que se destaca pelos níveis e qualidades de seus constituintes como, proteínas, lipídios, macro e micronutrientes, compostos fenólicos e vários antioxidantes, o que confere usos alimentícios, medicinais e cosméticos (LEMOS et al., 2012; SIQUEIRA et al., 2012; BONI et al., 2020). A árvore é utilizada para sombreamento de pastagens e no paisagismo, sendo sua madeira utilizada na construção, móveis, lenha, carvão e para biodiesel. A espécie também é indicada para programas de reflorestamento, recuperação de áreas degradadas e em sistemas agroflorestais (FELFILI et al., 2002; LORENZI, 2008; VERA et al., 2009; MARTINOTTO et al., 2012; PINHO et al., 2019).

Portanto, a compreensão das relações da *D. alata* com os componentes bióticos e abióticos, sejam eles de ocorrência natural ou impostas pelo homem, é fundamental para o manejo na produção dessa espécie. Entretanto, os trabalhos ainda são escassos. A espécie é classificada como secundária tardia, com distribuição com preferencialmente em fitofisionomia de cerradões e matas (FELFILI et al., 2002; VERA et al., 2009). De ocorrência em solos areno-argilosos, bem drenados, de média fertilidade, parece ser sensível ao déficit hídrico, ao passo que apresenta várias respostas de sobrevivência (MALTAROLO et al., 2016; MATOS et al., 2018).

Diante do exposto, levantamos três hipóteses: (1) as mudas de *D. alata* são sensíveis ao déficit hídrico, apresentando desequilíbrios nas relações hídricas, redução do metabolismo fotossintético e restrição no crescimento; (2) a aplicação de ácido abscísico promove aumento na taxa de colonização de micorrizas arbusculares e, portanto, apresenta efeito indireto na mitigação do déficit hídrico em mudas de *D. alata*; (3) a inoculação com FMAs mitiga os efeitos do déficit hídrico nas mudas de *D. alata*, auxiliando na retomada de crescimento após normalização do fornecimento de água. Para comprovar tais hipóteses objetivamos com este trabalho, avaliar o metabolismo fotossintético e crescimento inicial de mudas de *D. alata* sob déficit hídrico associado à micorrizas arbusculares e ácido abscísico.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Local e instalação do experimento

O trabalho foi desenvolvido na Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados - MS. O período experimental compreendeu agosto de 2018 a maio de 2019.

Frutos de *Dipteryx alata* foram coletados aleatoriamente de matrizes localizadas no Assentamento Dezesete de Abril, localizado em Casa Verde, Distrito de Nova Andradina, Mato Grosso do Sul, com uma área aproximada de 28,5 mil hectares, onde 4 mil hectares correspondem a área de Reserva Legal (RL). Entre as coordenadas 21°46'54.6"S, 53°13'23.6"W e (CD) 21°49'36.1"S, 53°13'07.1"W.

Os frutos foram despolidos e as sementes obtidas passaram por desinfestação de 1 minuto em álcool (70% v/v) e 5 minutos em hipoclorito de sódio (2,5% de cloro ativo). A semeadura foi realizada em vasos de 7 litros de capacidade, contendo substrato constituído da mistura de terra + areia (2:1), esterilizado por autoclavagem à 120 °C, pressão de 1,05 kg cm<sup>-2</sup>, por 60 minutos, sendo três sementes por vaso.

Após semeadura os vasos foram mantidos em viveiro do tipo telado (22°11'53.7"S e 54°56'02"W, 461 m), com cobertura superior de polietileno de 150 µm transparente e 50% de sombreamento proveniente de telas Sombrite®. Aos 18 dias após a semeadura (DAS) foi feito desbaste a fim de padronizar uma muda por vaso. Irrigações manuais diárias foram feitas, por vaso, mantendo-se 75% da capacidade de retenção de água no substrato (SOUZA et al., 2000).

O solo utilizado para compor o substrato foi Latossolo Vermelho distroférico, de textura argilosa (SANTOS et al., 2013). A análise dos atributos químicos do substrato utilizado apresentou pH (H<sub>2</sub>O) = 6,0; P (resina) = 7,5 mg dm<sup>-3</sup> e teor de matéria orgânica = 24,1 g dm<sup>-3</sup>. Os dados em cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, foram potássio (K) = 0,18; cálcio (Ca) = 5,7; magnésio (Mg) = 1,7; acidez potencial (H+Al) = 3,0; soma de bases trocáveis (SB) = 7,6; capacidade de troca catiônica (CTC) = 10,6, saturação por bases em porcentagem (V%) foi de 72,0%.

## 2.2 Inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs)

Aos 90 DAS, quando as mudas apresentavam altura média de 15 cm, foi realizado o tratamento de inoculação com FMAs, sendo: SM – sem inoculação; M1 - inoculação com *Rhizoglyphus heterosporus*; M2 - *Rhizoglyphus clarum*; e MO - mistura de espécies FMAs (*On farm*), não contendo as espécies fúngicas dos inóculos M1 e M2. A inoculação foi realizada abrindo-se duas covas pequenas, espaçadas de 3 cm da muda cada, despejando-se 15 dm<sup>3</sup> do inóculo (substrato + esporos) cova<sup>-1</sup>. Os inóculos foram obtidos da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa – Milho e Sorgo, Sete Lagoas - MG.

## 2.3 Aplicação de ácido abscísico

A partir de solução-estoque de 1 mM de ABA (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) em 1% de etanol, foram diluídas soluções à concentração de 50 µM. Foram realizadas duas aplicações de 50,0 mL da solução cova<sup>-1</sup>, aos 10 e 20 dias após a inoculação com FMAs, sendo esses períodos correspondente ao desenvolvimento da colonização radicular pelos FMAs (BRUNDRETT et al., 1985). A concentração final de ABA utilizada estava de acordo com a faixa de concentração utilizada em outros estudos (AUDENAERT et al., 2002; HERRERA-MEDINA et., 2007). O processo foi realizado com auxílio de seringa com agulha do tipo veterinária hipodérmica de 25 X 15 cm.

## 2.4 Regimes hídricos e épocas de avaliação

Aos 15 dias após a segunda aplicação de ABA, quando as mudas estavam com aproximadamente cinco meses de idade e apresentavam em média, 20 cm de comprimento de parte aérea, 5 folhas e área foliar de 143,00 cm<sup>2</sup>, foram estabelecidos os regimes hídricos, sendo parte das mudas denominadas de controle (C), nas quais foi mantida a irrigação, e outra parte de déficit hídrico (D), com suspensão da irrigação. Foi realizado monitoramento diário da taxa fotossintética (A), em mudas de ambos regimes, utilizando analisador de gases por infravermelho (IRGA), marca ADC, modelo LCi PRO (Analytical Development Co. Ltda, Hoddesdon, UK). Quando detectados nas primeiras mudas do déficit hídrico, de pelo menos um tratamento, valores de A próximos à zero, determinou-se a primeira época de avaliação (F – fotossíntese zero), momento em que

realizou-se a retomada da irrigação mantendo a capacidade de retenção do substrato de 75% por 100 dias, caracterizando a segunda época de avaliação (R - recuperação).

## 2.5 Delineamento experimental

O trabalho foi constituído de dois experimentos, em blocos ao acaso, distintos pela aplicação (ABA+) ou não (ABA-). Por meio do agrupamento de ambos experimentos nas mesmas condições ambientais (local e época de instalação), foi realizada a análise conjunta de experimentos, com 16 tratamentos formados da combinação entre regimes hídricos: controle (irrigação contínua) e déficit; inoculação micorrízica: SM, M1, M2 e MO; e épocas de avaliação: F e R. Cada tratamento contendo três repetições, sendo um vaso com uma muda cada repetição, totalizando 96 vasos.

## 2.6 Parâmetros fisiológicos e de crescimento avaliados

Os dados de temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) externa ao sombrite e umidade relativa (U.R.) externa ao sombrite foram obtidos do banco de dados da estação da Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados/MS, localizada a 23,4 km do local do experimento (Figura 1A). Os dados climáticos em cada época de avaliação, obtidos por leituras com aparelho termo-higrômetro são mostrados na Figura 1B.

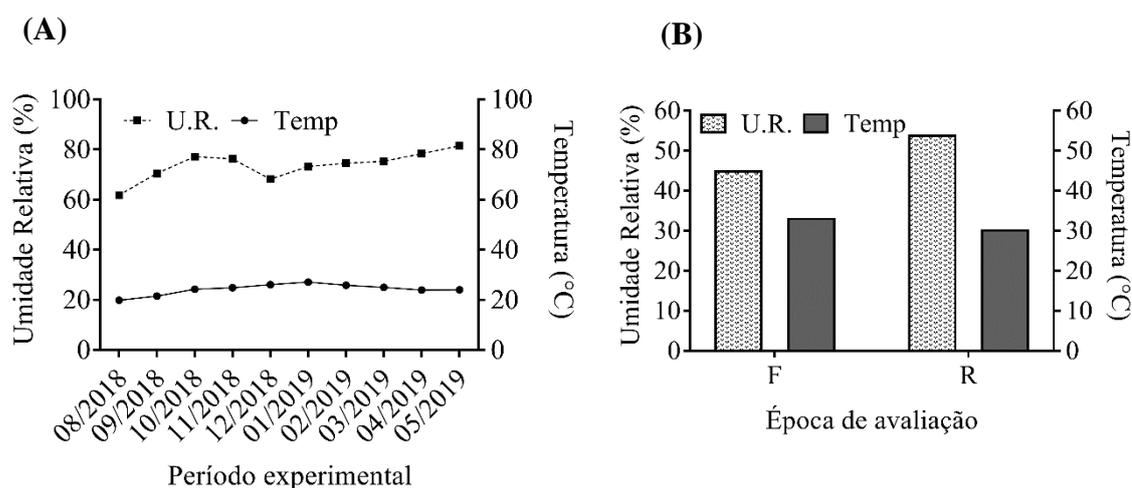


FIGURA 1. Umidade relativa (U.R.) e Temperatura (Temp) externa ao viveiro durante o período experimental (agosto de 2018 a maio de 2019). Fonte: Estação Meteorológica da EMBRAPA Agropecuária de Dourados – MS (A), e aferidas no viveiro (B). Dourados/MS, UFGD, 2020.

As avaliações não-destrutivas foram realizadas entre 8 e 11 horas da manhã, sob fluxo fotossintético de fótons ( $FFF$ ) igual à  $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , sendo em cada repetição dos tratamentos, realizadas três leituras, em folhas completamente expandidas e previamente marcadas, de modo que todas as medições fossem sempre realizadas nas mesmas folhas.

As características avaliadas foram:

As trocas gasosas, quantificadas utilizando analisador de gases por infravermelho (IRGA), marca ADC, modelo LCi PRO (Analytical Development Co. Ltda, Hoddesdon, UK), sendo medidas a taxa fotossintética líquida ( $A$ ) e transpiração ( $E$ ); condutância estomática ( $gs$ ); e concentração interna de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ).

A fluorescência da clorofila  $a$  de folhas adaptadas ao escuro por 30 minutos, com o auxílio de cliques adaptadores para a condição de oxidação completa do sistema fotossintético de transporte de elétrons, foi dada pelos registros da fluorescência inicial ( $F_0$ ) e a eficiência quântica potencial do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ), mensuradas com o auxílio do fluorímetro portátil, modelo OS-30p (Opti-Sciences Chlorophyll Fluorometer, Hudson, USA).

As variáveis de avaliação destrutiva foram:

O potencial hídrico das folhas ( $\Psi_w$ ) obtido a partir de leituras realizadas em folhas individuais pertencentes ao terceiro par de folhas totalmente expandidas, do ápice para a base, entre 10 e 11 horas da manhã, usando uma câmara de pressão (Portable Plant Water Status Console - modelo 3115), imediatamente após a coleta das folhas. O controle relativo de água (CRA) foi determinado de acordo com Smart e Bingham (1974):

$$CRA (\%) = \left[ \frac{(massa fresca - massa seca)}{(massa saturada - massa seca)} \right] \times 100$$

Sendo que de folhas coletadas às 7 horas da manhã, foram obtidos discos foliares de área conhecida e pesada a massa fresca. Posteriormente, os discos foram colocados em placas de petri com água destilada por 24 h para saturação. Após pesagem da massa saturada, foram secos em estufa com circulação forçada de ar, à temperatura de  $65^\circ \text{C}$  por 72 horas, para determinação da massa seca.

A qualidade das mudas foi avaliada com base no Índice de Qualidade de Dickson segundo a equação de Dickson et al. (1960):

$$IQD = \left[ \frac{(MST)}{\left(\frac{H}{DC}\right) + \left(\frac{MSPA}{MSR}\right)} \right]$$

Na qual, *MST* é a massa seca total (g); *MSPA* é a massa seca da parte aérea (g); e *MSR* é a massa seca de raiz (g), obtidas pela secagem em estufa com circulação forçada de ar, à temperatura de 65° C por 72 horas. *H* é a altura (cm) medida com régua graduada e *DC* é o diâmetro do caule medido com paquímetro digital Digimess (0,001 mm).

O Índice de Dependência Micorrízica de Campo Relativo (*RFMD*), para plantas que formaram MA, foi adaptado de Plenchette et al. (1983), sendo calculado pela equação:

$$RFMD (\%) = \left[ \frac{(IQD \text{ de plantas MA} - IQD \text{ de plantas não MA})}{(IQD \text{ de plantas MA})} \right] \times 100$$

## 2.7 Parâmetros micorrízicos avaliados

De mudas coletadas para as avaliações destrutivas, foram isoladas manualmente, raízes finas (secundárias e terciárias), lavadas em peneira (710 mm) e formadas amostras compostas da combinação entre regimes, inoculação micorrízica e épocas de avaliação de ambos experimentos. Para a coloração das raízes foi utilizado o método de coloração histoquímica diferenciado de Miranda (2008), para clareamento de sistemas radiculares lenhosos pigmentados, como é o caso da espécie *D. alata*, com adaptações, sendo o procedimento de limpeza das raízes realizado com KOH (10%), em banho-maria de 90 °C por 60 minutos; clareamento com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (2% - 30 min.) e HCl (5% - 60 min.); coloração com azul de tripano em lactoglicerol (1:1:1, banho-maria de 65 °C por 30 min.); e armazenamento em glicerol 50% (v/v).

Para a estimativa da colonização micorrízica foram preparadas duas lâminas de microscopia, contendo cada lâmina 15 fragmentos radiculares de 1 cm, totalizando 30 fragmentos por amostra. Os fragmentos foram observados ao microscópio óptico (Zeiss

Primo Star) com câmera acoplada (Axiocam 105 color) para a microfotografia dos mesmos, sendo avaliados de acordo com a faixa de classes de Trouvelot et al. (1986), para colonização micorrízica (notas: 0 a 5) e abundância arbuscular (notas: A1; A2; e A3), bem como os cálculos dos seguintes parâmetros micorrízicos:

- Frequência de micorrizas no sistema radicular

$$F\% = \left( \frac{n^\circ \text{ de fragmentos MA}}{n^\circ \text{ total de fragmentos}} \right) \times 100$$

- Intensidade de colonização dos FMA no sistema radicular

$$M\% = \left( \frac{95n_5 + 70n_4 + 30n_3 + 5n_2 + n_1}{n^\circ \text{ total de fragmentos}} \right)$$

Na qual,  $n_5$  = número de fragmentos classificados como 5;  $n_4$  = número de fragmentos classificados como 4, etc.

- Intensidade de colonização dos FMA nos fragmentos radiculares

$$m\% = \left( \frac{M\% \times n^\circ \text{ total de fragmentos}}{n^\circ \text{ de fragmentos MA}} \right)$$

- Abundância de arbúsculos nas partes nas partes micorrízicas dos fragmentos radiculares

$$a\% = \left( \frac{100mA_3 + 50mA_2 + 10mA_1}{100} \right)$$

Na qual,  $mA_3$ ,  $mA_2$ ,  $mA_1$  são a% de  $m\%$ , classificados como A3, A2, A1, respectivamente, com  $mA_3 = [(95n_5A_3 + 70n_4A_3 + 30n_3A_3 + 5n_2A_3 + n_1A_3) / (n^\circ \text{ de fragmentos MA})] \times 100$ , e o mesmo para A2 e A1.

- Abundância arbuscular no sistema radicular

$$A\% = \left( \frac{M\%}{100} \right) \times a\%$$

## 2.8 Análises estatísticas

Dados de todos os parâmetros avaliados foram submetidos à análise de variância e, quando significativas pelo teste F ( $P \leq 0,05$ ), as médias foram comparadas pelo teste Skott-Knott, utilizando-se o software estatístico AgroEstat (BARBOSA e MALDONADO, 2015). Foi realizado teste de correlação do coeficiente de Pearson entre as variáveis fisiológicas e de crescimento para os dois experimentos. Por fim, foi conduzida uma análise multivariada de redundância (RDA), tendo como matriz de variáveis respostas os parâmetros micorrízicos e de variáveis explicativas a combinação entre os inóculos com FMAs e aplicação de ABA, sendo a significância da relação linear entre elas, testada usando 1000 permutações. Tanto para a correlação de Pearson quanto para RDA foi utilizado o software XLSTAT 2019 software (AddinSoft, 2019).

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Parâmetros ecofisiológicos, dependência micorrízica e qualidade de mudas

A análise conjunta de experimentos mostrou interação significativa entre experimentos e tratamentos para: conteúdo relativo de água (*CRA*); taxa fotossintética (*A*); concentração interna de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ); índice de qualidade de Dickson (*IQD*); e dependência micorrízica de campo relativo (*RFMD*). Por outro lado, taxa de transpiração (*E*); potencial hídrico ( $\Psi_w$ ), condutância estomática (*gs*), fluorescência inicial ( $F_0$ ), eficiência quântica potencial do FSII ( $F_v/F_m$ ), foram afetados apenas pelos efeitos dos tratamentos.

Independente da inoculação com FMA, o  $\Psi_w$  apresentou-se mais negativo sob déficit hídrico (Figura 2).

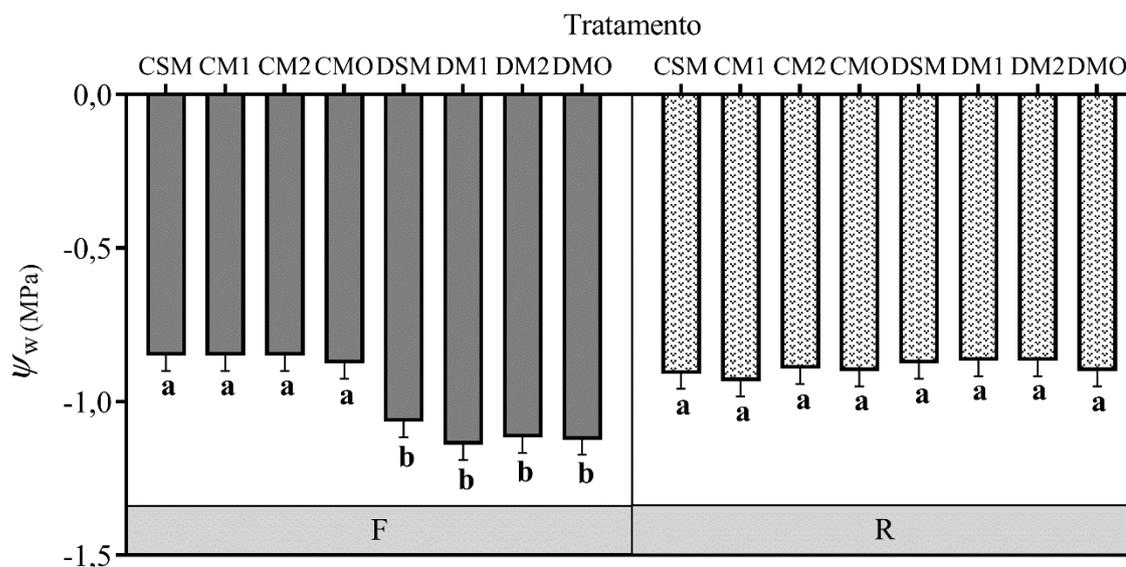


FIGURA 2. Potencial hídrico -  $\Psi_w$  em mudas de *Dipteryx alata* em função de regime hídrico – C: controle, D: déficit; épocas de avaliação - F: fotossíntese zero (7 dias da suspensão da irrigação), R: recuperação (100 dias após F); e inoculação com FMAs: SM (sem inoculação), M1 (*R. heterosporum*), M2 (*R. clarum*), MO (mistura *On farm*). Asterístico (\*) indica diferença significativa entre os experimentos (ABA- e ABA+), para um mesmo inoculante, à  $P \geq 0,05$ . Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P \geq 0,05$ ) na comparação entre todos os tratamentos e épocas de cada experimento. Dourados/MS, UFGD, 2020.

O *CRA* nas mudas ABA+, foi menor em todos os tratamentos na avaliação F, com exceção das mudas controle com inoculação M1 (*R. heterosporum*), onde não houve diferença entre os experimentos. Em R, somente houve diferença entre as mudas DM1, com *CRA* 46,06% maior para DM1\_ABA-, em relação ao ABA+ (média e desvio padrão:  $68,59 \pm 2,68$  e  $46,96 \pm 6,68\%$ , respectivamente) (Figura 3).

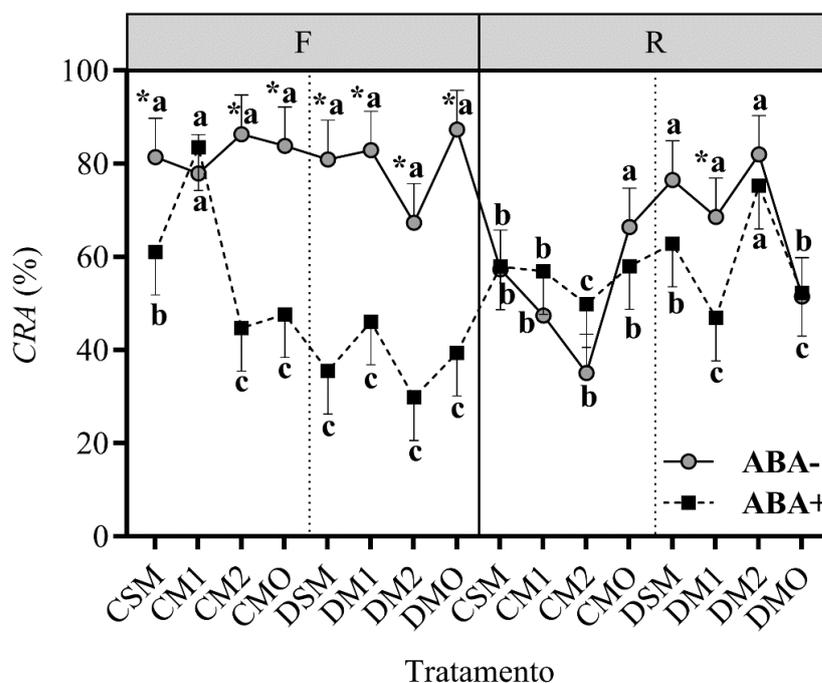


FIGURA 3. Conteúdo relativo de água – *CRA* em mudas de *Dipteryx alata* em função de regime hídrico – C: controle, D: déficit; épocas de avaliação - F: fotossíntese zero (7 dias da suspensão da irrigação), R: recuperação (100 dias após F); e inoculação com FMAs: SM (sem inoculação), M1 (*R. heterosporum*), M2 (*R. clarum*), MO (mistura *On farm*). Asterístico (\*) indica diferença significativa entre os experimentos (ABA- e ABA+), para um mesmo inoculante, à  $P \geq 0,05$ . Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P \geq 0,05$ ) na comparação entre todos os tratamentos e épocas de cada experimento. Dourados/MS, UFGD, 2020.

Os primeiros valores de *A* próximos à zero, no regime de déficit hídrico, foram detectados nas mudas M2\_ABA- (média de  $0,5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Em geral não houve efeito da aplicação de ABA sobre *A*. No entanto, destacamos que quando a diferença foi constatada, ocorreu nas mudas inoculadas, como em F\_DM2 (*R. clarum*), com *A* aproximadamente cinco vezes maior quando comparada ao ABA- ( $2,29 \pm 0,10$  e  $0,44 \pm 0,08 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), 67,76% maior, em R, nas mudas CM1 ( $8,17 \pm 0,71$ ;  $4,87 \pm 0,92 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), e 46,83% na mistura MO (*On farm*) ( $5,33 \pm 0,72$ ;  $3,63 \pm 1,02 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) (Figura 4A). Em ambos experimentos, houve queda de *A* sob déficit hídrico. As mudas

sem inoculação (SM), M2\_ABA+, e MO exibiram médias maiores em comparação à M2\_ABA- e M1, que apresentaram valores próximos à zero. Quando da retomada da irrigação, a recuperação também foi dependente da inoculação e espécies de FMAs, com comportamento inversamente proporcional, em que as mudas SM e MO, pouco ou não retomaram A, e M1 e M2, as taxas foram iguais ou maiores que as mudas controle (Figura 4).

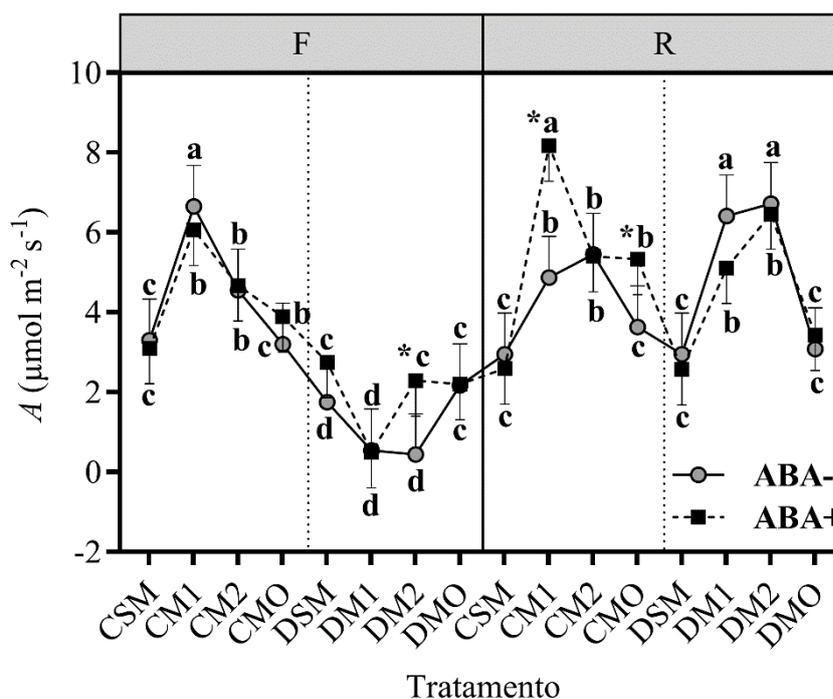


FIGURA 4. Taxas fotossintéticas – A em mudas de *Dipteryx alata* em função de regime hídrico – C: controle, D: déficit; épocas de avaliação - F: fotossíntese zero (7 dias da suspensão da irrigação), R: recuperação (100 dias após F); e inoculação com FMAs: SM (sem inoculação), M1 (*R. heterosporum*), M2 (*R. clarum*), MO (mistura *On farm*). Asterístico (\*) indica diferença significativa entre os experimentos (ABA- e ABA+), para um mesmo inoculante, à  $P \geq 0,05$ . Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P \geq 0,05$ ) na comparação entre todos os tratamentos e épocas de cada experimento. Dourados/MS, UFGD, 2020.

A partir do estabelecimento do regime déficit, com a retirada da irrigação, a *E* reduziu em todos os tratamentos e assim permaneceu, mesmo com após a irrigação ser fornecida novamente (Figura 5).

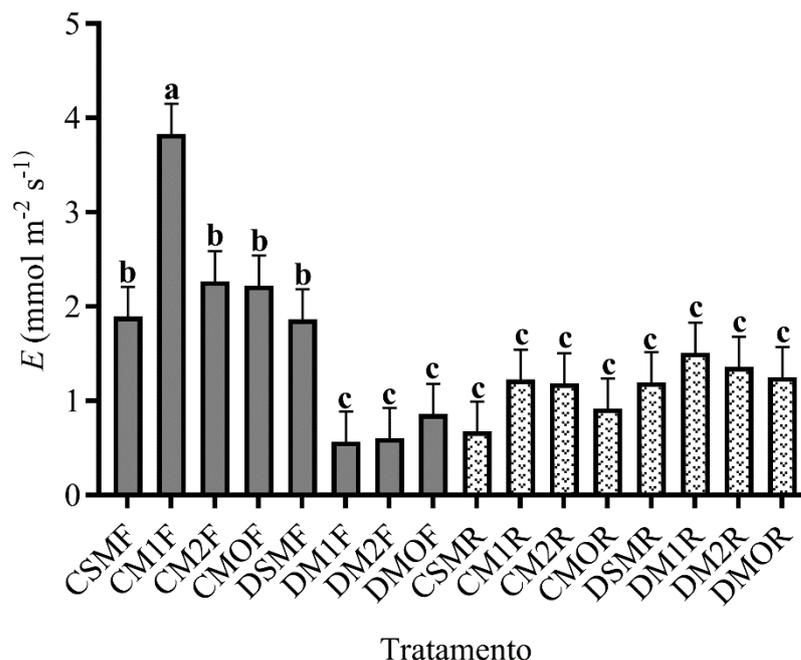


FIGURA 5. Taxas de transpiração –  $E$  em mudas de *Dipteryx alata* em função de regime hídrico – C: controle, D: déficit; épocas de avaliação - F: fotossíntese zero (7 dias da suspensão da irrigação), R: recuperação (100 dias após F); e inoculação com FMAs: SM (sem inoculação), M1 (*R. heterosporum*), M2 (*R. clarum*), MO (mistura *On farm*). Asterístico (\*) indica diferença significativa entre os experimentos (ABA- e ABA+), para um mesmo inoculante, à  $P \geq 0,05$ . Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P \geq 0,05$ ) na comparação entre todos os tratamentos e épocas de cada experimento. Dourados/MS, UFGD, 2020.

As mudas em ABA+ mostraram maiores  $C_i$  no tratamento DM1, com médias de  $268,67 \pm 29,18 \mu\text{mol mol}^{-1}$ , e ABA- de  $142,00 \pm 26,19 \mu\text{mol mol}^{-1}$  (ABA-), portanto, diferença de 89,20%, e *On farm* com 37,50%, nas médias  $231,00 \pm 13,3 \mu\text{mol mol}^{-1}$  e  $168,00 \pm 16,00 \mu\text{mol mol}^{-1}$ . Em F\_ABA-, as plantas CMO e DM2 concentraram mais  $\text{CO}_2$  internamente que no ABA+, tendo discrepâncias de 14,50% ( $298,00 \pm 4,67$ ;  $260,27 \pm 8,22 \mu\text{mol mol}^{-1}$ ) e 47,69% ( $288,00 \pm 15,11$ ;  $195,00 \pm 10,07 \mu\text{mol mol}^{-1}$ ), respectivamente (Figura 6). As mudas sob DSM, nos dois experimentos, e M1\_ABA+ e M2\_ABA-, tiveram  $C_i$  mais elevadas.

Apesar do ABA interagir de maneira positiva com MO, comparando os experimentos, DMO e DM2, foram os tratamentos com menores  $C_i$ . Na ausência de ABA, as mudas DM1 e DMO demonstraram os menores valores entre todos os tratamentos. Por outro lado, em R, o  $C_i$  retornou à valores semelhantes e até superiores às testemunhas, independente da inoculação ou não com os fungos (Figura 6).

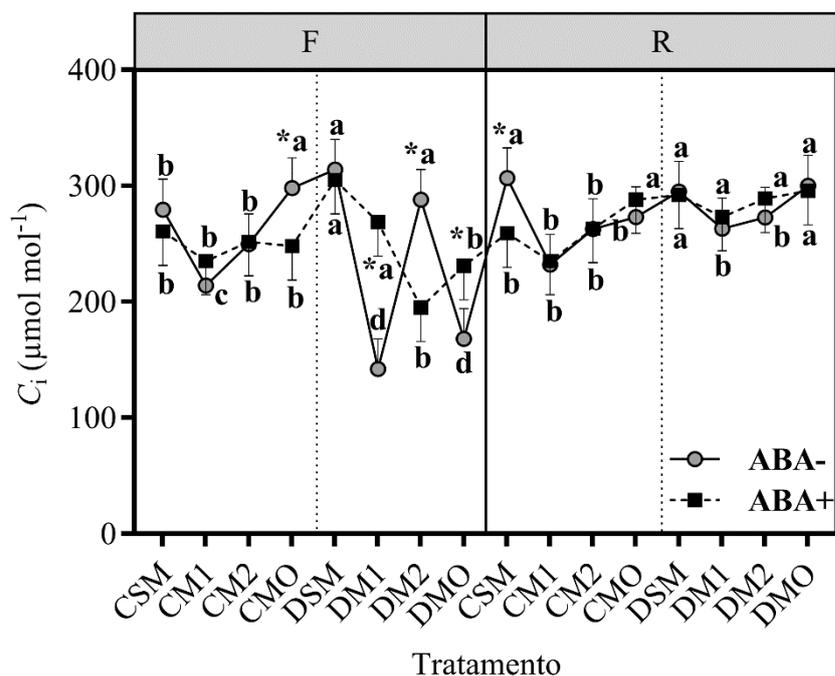


FIGURA 6. Concentração interna de CO<sub>2</sub> – C<sub>i</sub> em mudas de *Dipteryx alata* em função de regime hídrico – C: controle, D: déficit; épocas de avaliação - F: fotossíntese zero (7 dias da suspensão da irrigação), R: recuperação (100 dias após F); e inoculação com FMAs: SM (sem inoculação), M1 (*R. heterosporum*), M2 (*R. clarum*), MO (mistura *On farm*). Asterístico (\*) indica diferença significativa entre os experimentos (ABA- e ABA+), para um mesmo inoculante, à  $P \geq 0,05$ . Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P \geq 0,05$ ) na comparação entre todos os tratamentos e épocas de cada experimento. Dourados/MS, UFGD, 2020.

A condição de déficit hídrico reduziu  $g_s$  nas plantas, com exceção dos indivíduos sem inoculação, que tiveram médias próximas ao controle. Contudo, com o subsequente fornecimento de água, mantiveram valores semelhantes. Em contrapartida, as mudas inoculadas, ao final da recuperação, apresentaram  $g_s$  semelhantes às controle, no mesmo período, e superiores às de F (Figura 7).

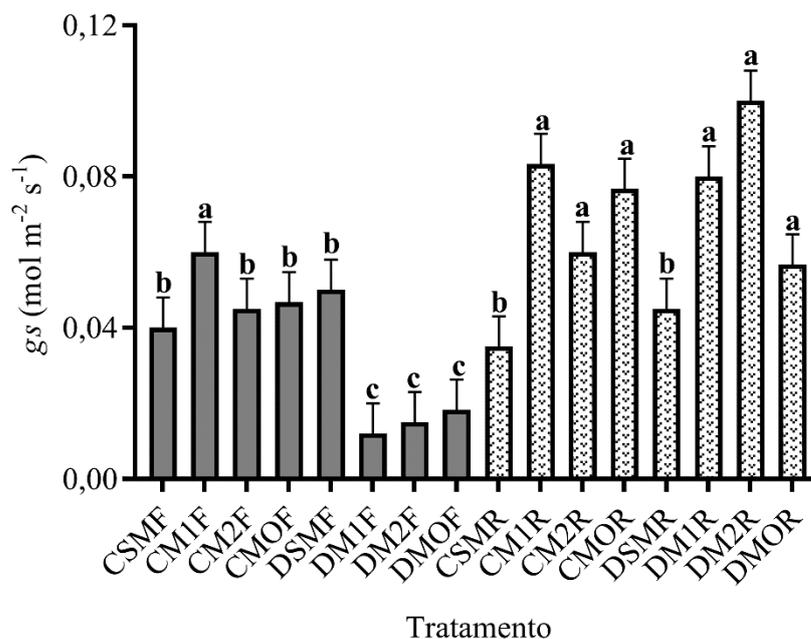


FIGURA 7. Condutância estomática –  $g_s$  em mudas de *Dipteryx alata* em função de regime hídrico – C: controle, D: déficit; épocas de avaliação - F: fotossíntese zero (7 dias da suspensão da irrigação), R: recuperação (100 dias após F); e inoculação com FMAs: SM (sem inoculação), M1 (*R. heterosporum*), M2 (*R. clarum*), MO (mistura *On farm*). Asterístico (\*) indica diferença significativa entre os experimentos (ABA- e ABA+), para um mesmo inoculante, à  $P \geq 0,05$ . Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P \geq 0,05$ ) na comparação entre todos os tratamentos e épocas de cada experimento. Dourados/MS, UFGD, 2020.

A  $F_0$  aumentou nas mudas sob déficit hídrico, sugerindo estresse nas mudas, exceto quando inoculadas com MO, que foi semelhante ao controle, e menos acentuado que SM. Em R, as mudas previamente estressadas foram semelhantes às controle, e menores que o controle da F. Com a redução de  $F_v/F_m$ , sob déficit, os danos no FSII também foram indicados, com ressalva para as mudas inoculadas com MO, que expressaram semelhança com as testemunhas em F. Em R houve recuperação em todos os tratamentos (Figuras 8A e B).

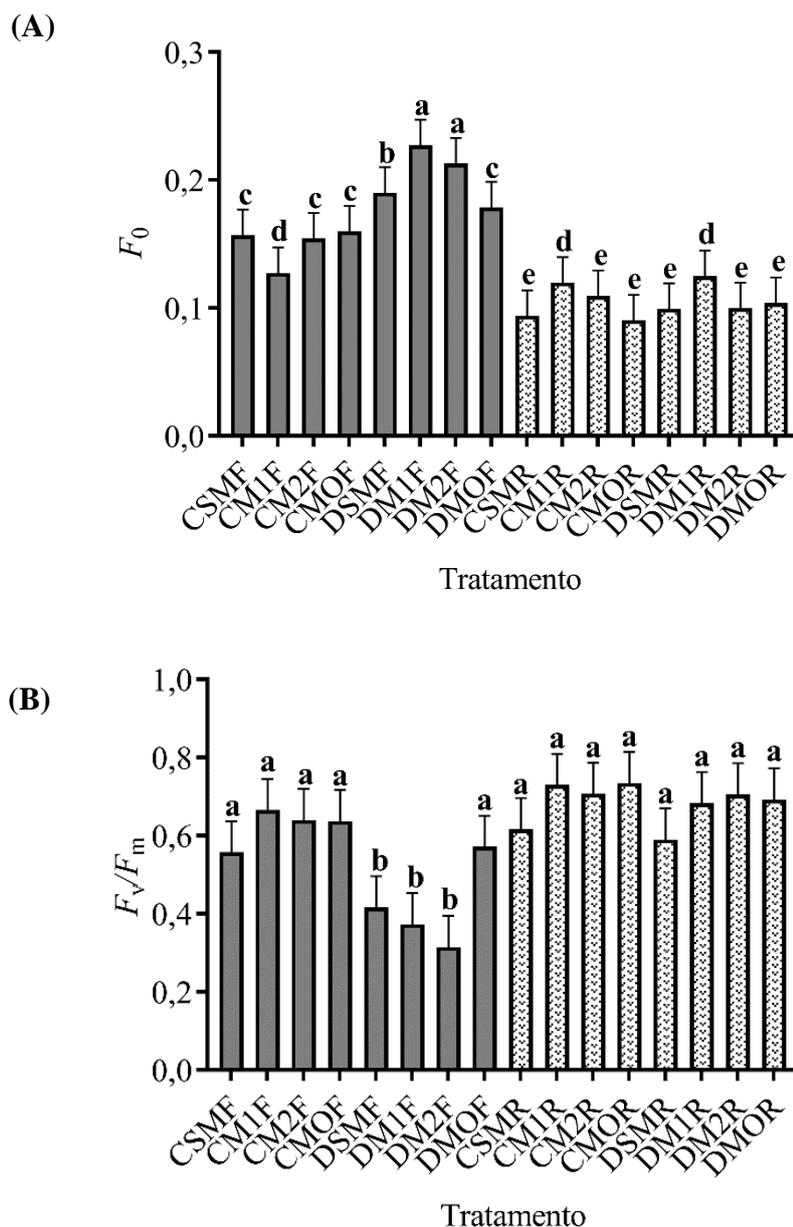


FIGURA 8. Fluorescência inicial -  $F_0$  (A), eficiência quântica potencial do FSII -  $F_v/F_m$  (B) em mudas de *Dipteryx alata* em função de regime hídrico regime hídrico – C: controle, D: déficit; épocas de avaliação - F: fotossíntese zero (7 dias da suspensão da irrigação), R: recuperação (100 dias após F); e inoculação com FMAs: SM (sem inoculação), M1 (*R. heterosporum*), M2 (*R. clarum*), MO (mistura *On farm*). Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P \geq 0,05$ ) na comparação entre todos os tratamentos. Dourados/MS, UFGD, 2020.

As mudas de *D. alata* exibiram diferenças mais destacadas de qualidade, na avaliação de recuperação (Figura 9). Ressalta-se que as mudas DMO, em R, apresentaram médias mais elevadas em 92% na comparação ao experimento ABA- ( $2,25 \pm 0,23$  e  $0,18 \pm 0,02$ , respectivamente). Nos demais tratamentos, em ambas as épocas, todas as diferenças encontradas apontaram melhor qualidade de mudas para ABA-. Também neste experimento, em relação aos FMA, a ausência de inóculos foi limitante para IQD nas mudas previamente estressadas em R. No experimento ABA+, não houve diferença entre as duas épocas de avaliação, mantendo, portanto, menor índice de qualidade.

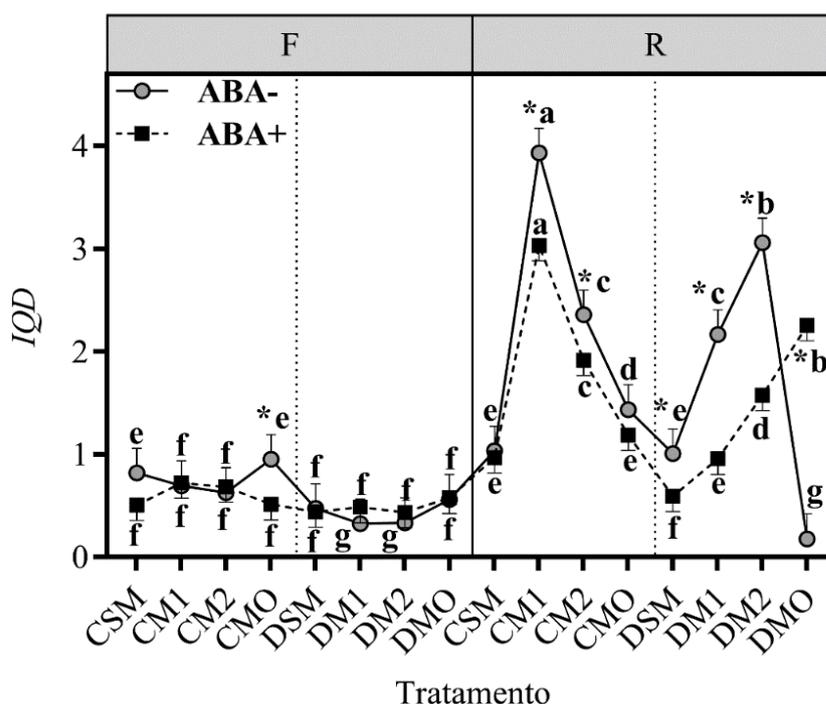


FIGURA 9. Índice de Qualidade de Dickson - IQD em mudas de *Dipteryx alata* em função de regime hídrico - C: controle, D: déficit; épocas de avaliação - F: fotossíntese zero (7 dias da suspensão da irrigação), R: recuperação (100 dias após F); e inoculação com FMAs: SM (sem inoculação), M1 (*R. heterosporum*), M2 (*R. clarum*), MO (mistura *On farm*). Asterístico (\*) indica diferença significativa entre os experimentos (ABA- e ABA+), para um mesmo inoculante, à  $P \geq 0,05$ . Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P \geq 0,05$ ) na comparação entre todos os tratamentos e épocas de cada experimento. Dourados/MS, UFGD, 2020.

As Figuras 10A e B, mostram os resultados da análise de correlação de Pearson aplicada para os parâmetros fisiológicos e qualidade de mudas, pela qual foram reveladas correlações significativas positivas e negativas, em todos os níveis de intensidade (*heat map*). No experimento ABA- (Figura 10A), destaque para as fortes correlações ( $\sim 1,0$ ), positivas e altamente significativas ( $P \geq 0,01$ ) entre:  $A$  e  $gs$ ;  $A$  e  $IQD$ , e negativas ( $\sim -1,0$ ;  $P \geq 0,01$ ) entre:  $F_0$  e  $\Psi_w$ ,  $gs$ ,  $A$ , e  $F_v/F_m$ . No experimento ABA+ (Figura 10B), positivas entre:  $A$  e  $gs$ , e negativas entre:  $F_0$ ,  $F_v/F_m$  e  $\Psi_w$ . Além disso, vale ressaltar que as correlações  $\Psi_w$  e  $CRA$ , e  $C_i$  e  $CRA$  foram invertidas, na comparação entre os dois experimentos.

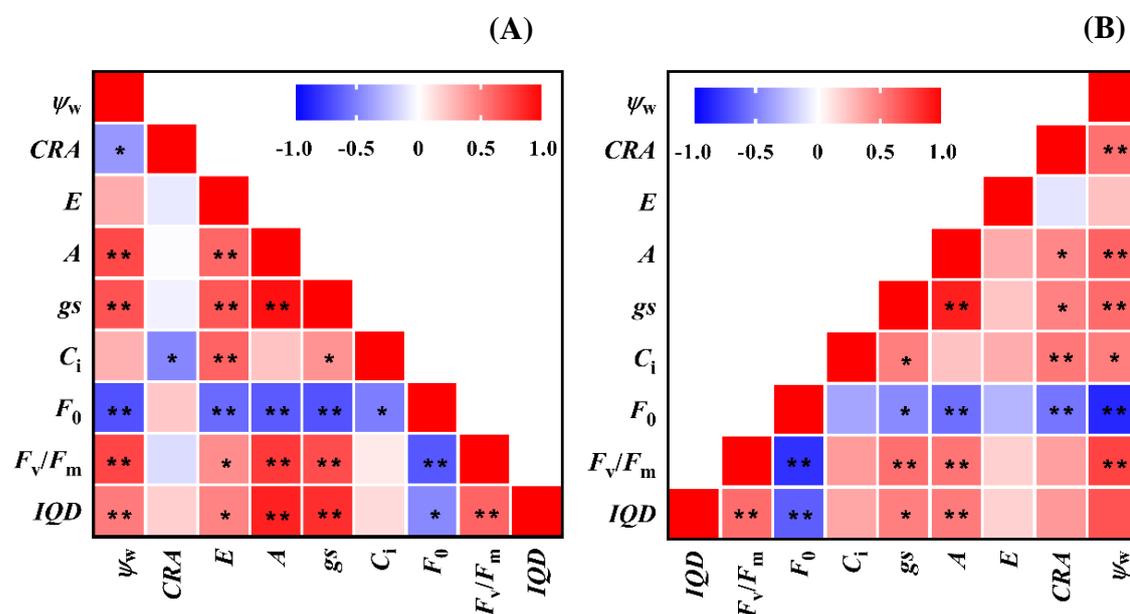


FIGURA 10. *Heat map* da análise de correlação de Pearson bivariada entre os parâmetros avaliados em mudas de *Dipteryx alata*, nos experimentos sem aplicação de ABA (A), e com aplicação de ABA (B). \* correlações significativas à  $P \geq 0,05$ . \*\* correlações significativas à  $P \geq 0,01$ . Dourados/MS, UFGD, 2020.

As mudas em ABA+, inoculadas com M1 e M2, tanto controle quanto sob déficit hídrico, tiveram maiores *RFMD* que em ABA-, no qual também se destacam respostas negativas de dependência. Com a inoculação M1, as diferenças entre médias no controle  $29,76 \pm 3,39\%$  e  $-18,38 \pm 1,27\%$ , e de  $9,42 \pm 0,93\%$  e  $-47,69 \pm 5,24\%$  no déficit. Com M2, foram de  $24,35 \pm 8,14\%$  e  $31,23 \pm 9,89\%$  no controle, e de  $7,38 \pm 2,99\%$  e  $-49,36 \pm 15,00\%$  no déficit. O *RFMD* com MO foi influenciada pelo ABA somente na R, quando novamente o ABA+ aumentou os valores. As diferenças foram de  $73,41 \pm 2,55\%$  (ABA+) e  $-88,42 \pm 3,87\%$  (ABA-). Comparando os inoculantes, de maneira geral, em R, os valores de *RFMD* foram maiores que em F, podendo ser enfatizado, nesta época, o

aumento nos valores de dependência das mudas inoculadas com *R. clarum* e *On farm* em ABA+, e das duas espécies de *Rhizoglosum* em ABA- (Figura 11).

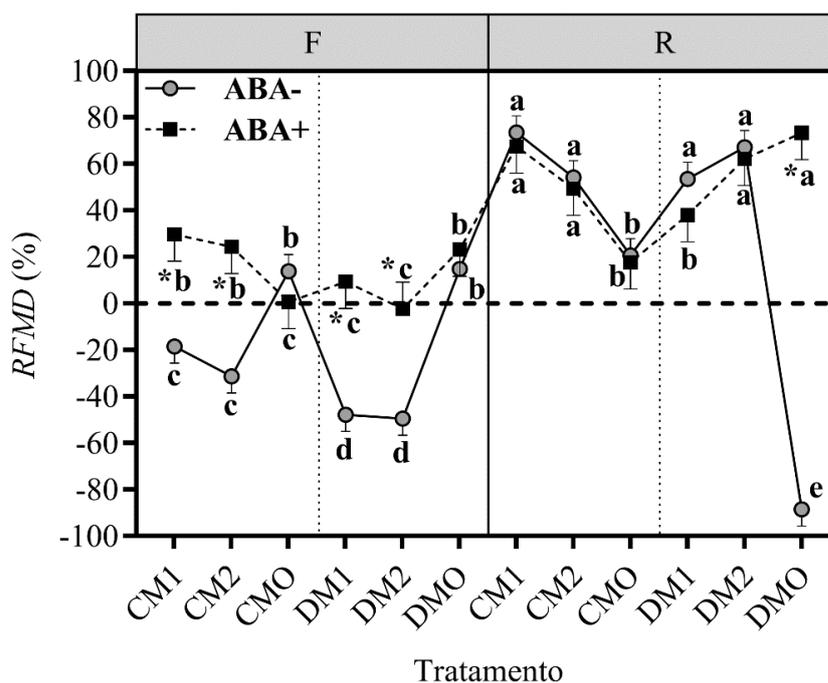


FIGURA 11. Dependência micorrízica de campo relativo - *RFMD* em mudas de *Dipteryx alata* em função de regime hídrico – C: controle, D: déficit; épocas de avaliação - F: fotossíntese zero (7 dias da suspensão da irrigação), R: recuperação (100 dias após F); e inoculação com FMAs: SM (sem inoculação), M1 (*R. heterosporum*), M2 (*R. clarum*), MO (mistura *On farm*). Asterístico (\*) indica diferença significativa entre os experimentos (ABA- e ABA+), para um mesmo inoculante, à  $P \geq 0,05$ . Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P \geq 0,05$ ) na comparação entre todos os tratamentos e épocas de cada experimento. Dourados/MS, UFGD, 2020.

### 3.2 Parâmetros micorrízicos

A frequência de micorrizas no sistema radicular ( $F\%$ ) foi de 100% para ambos experimentos e em todos os tratamentos (dados não mostrados). A intensidade de colonização dos FMA no sistema radicular ( $M\%$ ); intensidade de colonização dos FMAs nos fragmentos radiculares ( $m\%$ ); e abundância arbuscular no sistema radicular ( $A\%$ ) foram submetidos aos efeitos significativos da interação ABA x tratamentos. Abundância de arbúsculos nas partes micorrízicas dos fragmentos radiculares ( $a\%$ ) foi influenciada somente pelos tratamentos com FMAs.

A Figura 12 apresenta o exame microscópico dos segmentos radiculares de plantas de *D. alata* sem inoculação (A), em que se observa a ausência de colonização por FMAs; (B), inoculadas, mostrando o desenvolvimento de MAs, sendo o processo dado pela formação do micélio externo com hifas não-septadas extrarradiciais (C), que após penetrarem nas células corticais (D), apresentaram crescimento intracelular (E), com formação das vesículas, estruturas de armazenamento lipídico, e de arbúsculos (F), responsáveis pela troca entre plantas e FMAs.

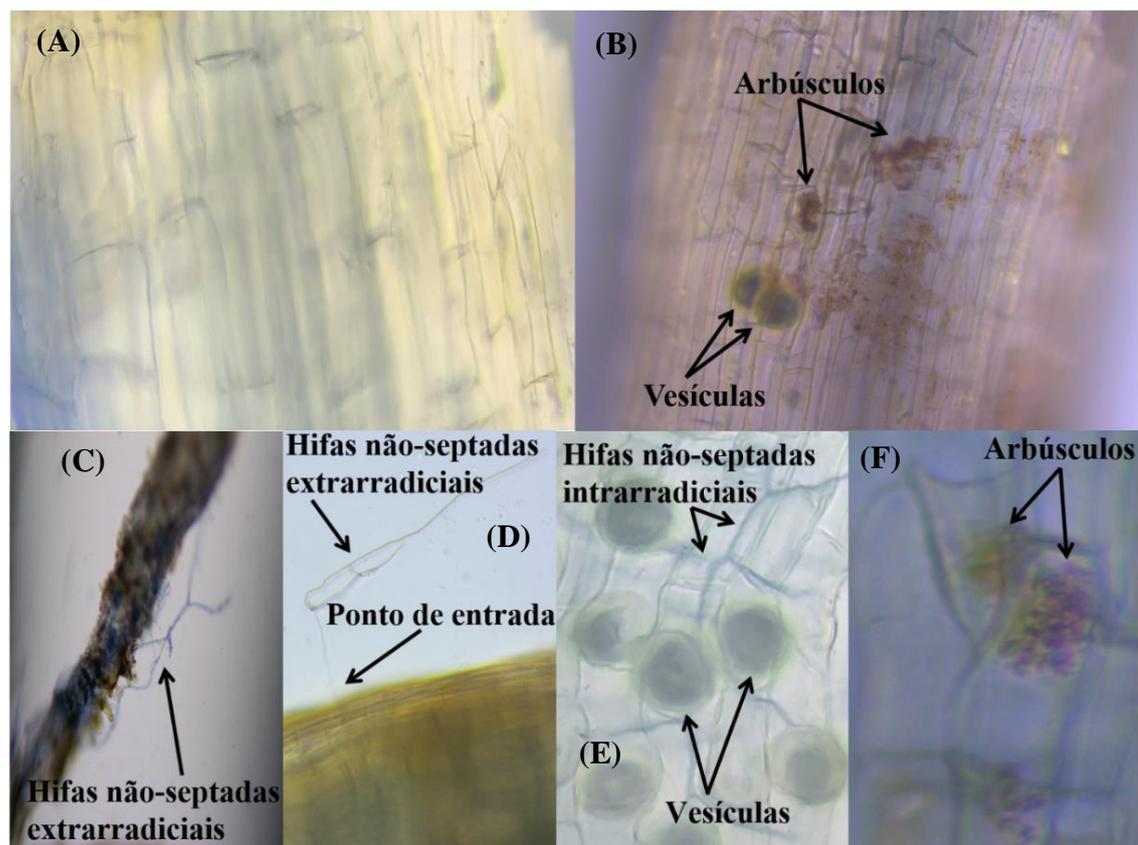


FIGURA 12. Visualização microscópica de raízes de *Dipteryx alata* sem colonização de FMAs (A, x400); coloração histoquímica com azul de tripano em raízes de *D. alata* colonizadas por espécies de FMAs (*On farm*) (B, x400); hifas extrarradiciais de *Rhizoglonus clarum* (C, x400); detalhe do ponto de entrada de hifa de *R. heterosporum* (D, x400); hifas intrarradiciais e vesículas (E, x400); detalhe de arbúsculos da micorriza com *R. clarum* (F, x400). Dourados/MS, UFGD, 2020.

A presença de ABA aumentou a intensidade de colonização dos FMA no sistema radicular (*M%*) nas mudas DM1 ( $38,67 \pm 9,22\%$  e  $19,17 \pm 0,92\%$ ) e DM2 ( $34,43 \pm 5,04\%$  e  $19,33 \pm 7,25\%$ ) em F. Sem aplicação do ABA o *M%* foi maior no CM2, nas duas épocas de avaliação, sendo as médias em F de  $26,77 \pm 6,82\%$  e  $11,30 \pm 1,93\%$ , e em R de  $27,33 \pm 4,24\%$  e  $8,50 \pm 3,53\%$ . Em R, houve manutenção das médias, em todas as

inoculações, no experimento ABA-. Com adição de ABA, as mudas sob DM2 e DMO terminaram com os menores valores de  $M\%$  (Figura 13).

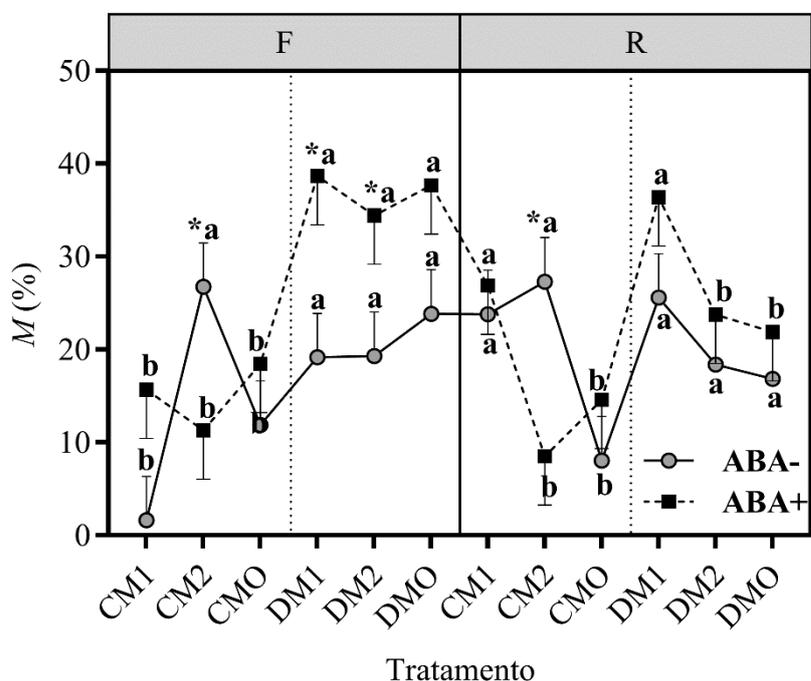


FIGURA 13. Intensidade de colonização dos FMAs no sistema radicular -  $M\%$  em mudas de *Dipteryx alata* em função de regime hídrico – C: controle, D: déficit; épocas de avaliação - F: fotossíntese zero (7 dias da suspensão da irrigação), R: recuperação (100 dias após F); e inoculação com FMAs: SM (sem inoculação), M1 (*R. heterosporum*), M2 (*R. clarum*), MO (mistura *On farm*). Asterístico (\*) indica diferença significativa entre os experimentos (ABA- e ABA+), para um mesmo inoculante, à  $P \geq 0,05$ . Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P \geq 0,05$ ) na comparação entre todos os tratamentos e épocas de cada experimento. Dourados/MS, UFGD, 2020.

O mesmo ocorreu para intensidade de colonização dos FMAs nos fragmentos radiculares ( $m\%$ ), exceto nas mudas DM2 e DMO em F, quando não houve diferenças entre os experimentos, e diferença no CM1\_F, sendo que as mudas ABA+ apresentaram média superior ( $17,99 \pm 6,68\%$  e  $1,91 \pm 0,88\%$ ) (Figura 14).

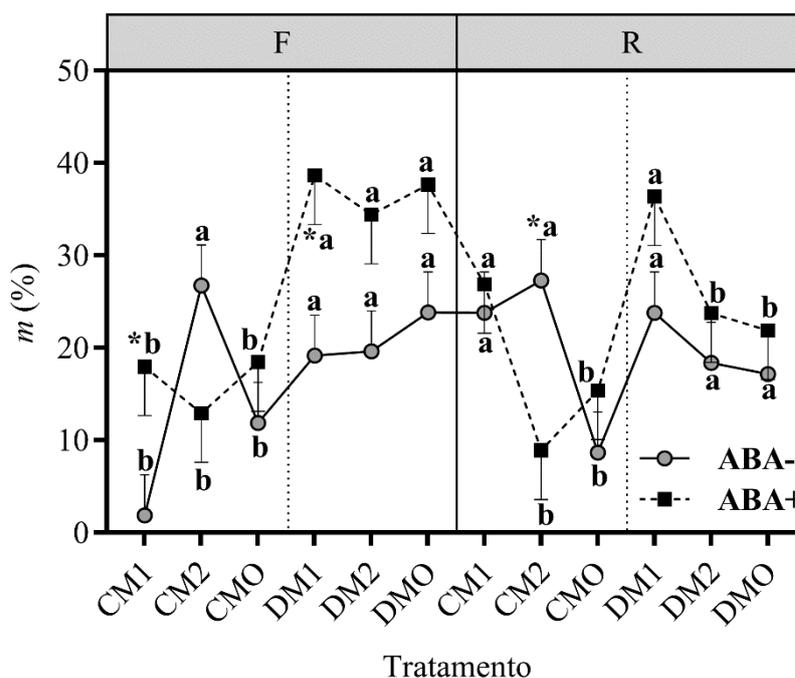


FIGURA 14. Intensidade de colonização dos FMA nos fragmentos radiculares -  $m\%$  em mudas de *Dipteryx alata* em função de regime hídrico – C: controle, D: déficit; épocas de avaliação - F: fotossíntese zero (7 dias da suspensão da irrigação), R: recuperação (100 dias após F); e inoculação com FMA: SM (sem inoculação), M1 (*R. heterosporum*), M2 (*R. clarum*), MO (mistura *On farm*). Asterístico (\*) indica diferença significativa entre os experimentos (ABA- e ABA+), para um mesmo inoculante, à  $P \geq 0,05$ . Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P \geq 0,05$ ) na comparação entre todos os tratamentos e épocas de cada experimento. Dourados/MS, UFGD, 2020.

As únicas diferenças de abundância arbuscular no sistema radicular ( $A\%$ ), entre os experimentos, foram em F nas mudas DM1, sendo maior em ABA+ com médias de  $15,83 \pm 4,61\%$  e  $7,81 \pm 0,30\%$  em ABA-. Na avaliação R, a diferença foi constatada no CM2\_ABA- ( $13,49 \pm 2,21\%$  e  $4,06 \pm 1,76\%$ ). Em relação aos tratamentos, nas mudas sob déficit hídrico, em ambos os experimentos, e nos três inóculos, os resultados foram semelhantes com maiores valores que no controle. Ao final dos experimentos, as médias foram mantidas, com exceção do tratamento DM2\_ABA+, que houve redução no  $A\%$  (Figura 15A).

Ao nível dos fragmentos, a abundância arbuscular ( $a\%$ ) foi menor em F no CM1 e CMO, e em R nas mudas DM2. Nos demais tratamentos, sem diferença estatística, o  $a\%$  apresentou valores superiores com média geral em torno de  $45,00\%$  (Figura 15B).

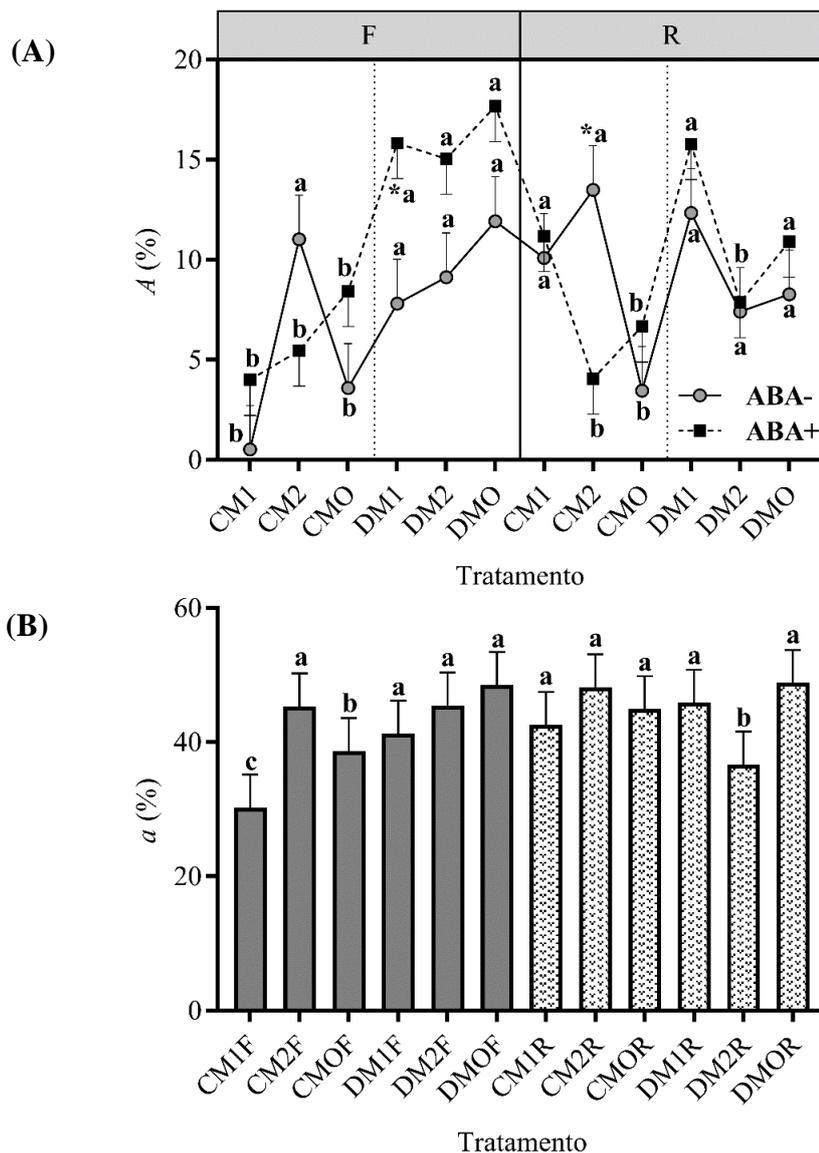


FIGURA 15. Abundância arbuscular no sistema radicular - A% (A); e nas partes micorrízicas dos fragmentos radiculares - a% (B) em mudas de *Dipteryx alata* em função de regime hídrico – C: controle, D: déficit; épocas de avaliação - F: fotossíntese zero (7 dias da suspensão da irrigação), R: recuperação (100 dias após F); e inoculação com FMAs: SM (sem inoculação), M1 (*R. heterosporum*), M2 (*R. clarum*), MO (mistura *On farm*). Asterístico (\*) indica diferença significativa entre os experimentos (ABA- e ABA+), para um mesmo inoculante, à  $P \geq 0,05$ . Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P \geq 0,05$ ) na comparação entre todos os tratamentos e épocas de cada experimento. Dourados/MS, UFGD, 2020.

Com a análise de redundância (RDA) foi possível mapear o padrão de variação dos parâmetros micorrízicos de acordo com a interação entre os diferentes inóculos e aplicação de ABA, bem como a distribuição das observações nas duas épocas de avaliação. A inércia (variância) restrita dos parâmetros micorrízicos pôde ser explicada pelos tratamentos em 28,30%. O p-valor calculado (0,009) no teste de permutação foi menor que o nível de significância  $\alpha = 0,05$ , rejeitando-se a hipótese nula, o que confirma a relação linear das variáveis explicativas e valida a confiabilidade dos resultados da análise.

O *triplot*, que reproduz os resultados da RDA, é exibido na Figura 16. Para garantir melhor legibilidade do gráfico, os *scores* dos eixos RDA foram normalizados em intervalo de -1 a 1. Os dois primeiros eixos da RDA, juntos, correspondem a 90,77% da variância explicada, que é 25,70% da variância total. No primeiro eixo (RDA1), todos os *scores* dos tratamentos que receberam ABA são colocados à direita, sem o regulador encontram-se à esquerda.

Todavia, em relação ao eixo vertical (RDA2), esse comportamento foi heterogêneo, indicando diferenças nas respostas dos parâmetros micorrízicos em relação à interação entre inoculação e ABA. O eixo RDA1, que explica 69,34% da variância, foi representado, especialmente, pela variável M1\_ABA+, com qual exerce correlação positiva, e depois por MO\_ABA- com correlação negativa. A variável M2\_ABA+, sobretudo, representa o eixo RDA2 (21,43%) com correlação negativa, seguido pelos tratamentos com inoculação MO, independente da aplicação de ABA.

A correlação entre as variáveis explicativas e de resposta são refletidas pelos ângulos entre os vetores das mesmas. Além disso, as variáveis são mais representativas, ao eixo correspondente em observação, quanto mais os vetores se afastam do centro de origem. M% e m% foram as variáveis respostas mais representativas no RDA1 e estão sob influência dos efeitos de M1\_ABA+, com qual estão correlacionadas positivamente. A% parece ser influenciada mais especificamente pela presença de ABA que pelas espécies de FMAs. Apontando na direção oposta, a% está negativamente correlacionada com o ABA. No RDA2 é a variável resposta mais importante, revelando interação positiva com MO\_ABA-.

As demais variáveis não expuseram relativa contribuições na construção dos eixos, bem como na análise de interações. Quanto as observações, não foi possível identificar agrupamentos discrepantes em relação às épocas de avaliação, demonstrando

que os efeitos dos tratamentos nas respostas dos parâmetros micorrízicos ocorreram durante todo o período experimental.

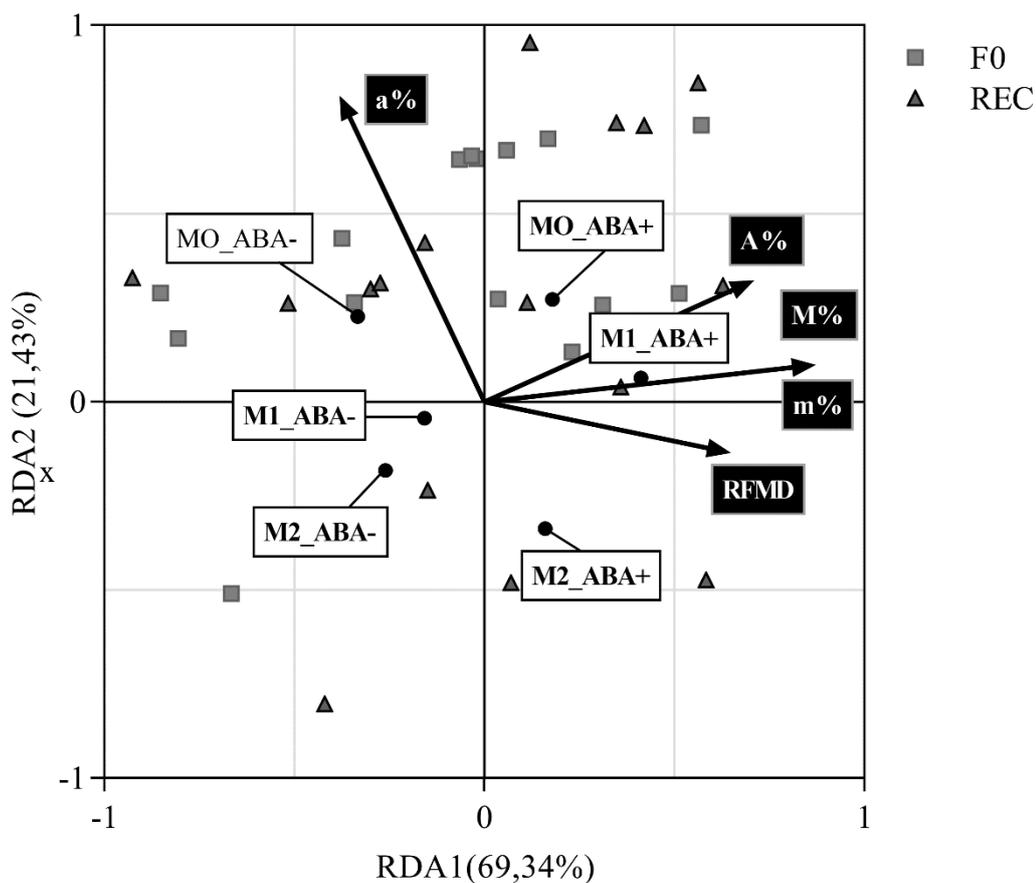


FIGURA 16. *Triplot* da análise de redundância (RDA), com parâmetros de colonização micorrízica (*M%*: intensidade de colonização dos FMA no sistema radicular; *m%*: intensidade de colonização dos FMA nos fragmentos radiculares; *A%* abundância arbuscular no sistema radicular; *a%*: abundância arbuscular nas partes micorrízicas dos fragmentos radiculares) como resposta, e experimentos (ABA- e ABA+) e tratamentos (M1 - *R. heterosporum*, M2 - *R. clarum*, MO - mistura *On farm*) como descritores. Setas em negrito indicam variáveis significativas do teste de permutação ( $P \leq 0,05$ ). Dourados/MS, UFGD, 2020.

## 4 DISCUSSÃO

Em nosso estudo as mudas de *D. alata* indicaram sensibilidade à seca do substrato. Na avaliação de déficit hídrico (F), foram alcançados valores de  $\Psi_w$  -1,20 MPa, aos 7 dias de restrição hídrica, os quais aproximaram-se ao limiar geral de murcha permanente de -1,5 MPa (SLATYER, 1967), independente da aplicação de ABA e da inoculação ou não com FMA. Possivelmente, esses resultados são provenientes de dois aspectos, (1) por parte do nível do fator de estresse em si, que pode ter sido mais proeminente que os efeitos benéficos esperados pelos componentes dos tratamentos, e/ou (2) pelas características intrínsecas da espécie traduzidas em sensibilidade, não sendo capaz de reverter o desbalanço entre ganho (absorção) e perda (transpiração) no fluxo de água.

O fechamento estomático, possivelmente ocorreu devido à redução de  $g_s$  e  $E$ , sem influência do ABA exógeno. Entretanto, estas reduções somente foram observadas com a presença de MA, demonstrando o possível efeito benéfico dos FMAs na maior eficiência de percepção de sinal ambiental pelas plantas, com economia de água. Na realidade, os resultados da simbiose micorrízica nas taxas de  $g_s$  e  $E$  são imprevisíveis, mas sugere-se que a MA, pode levar à produção de um sinal químico (não hidráulico) em direção às folhas, que induz o fechamento estomático pela alteração na produção de ABA e citocinina (RUIZ-LOZANO e AROCA, 2010). Além disso, Xu et al. (2018) sugeriram que a melhor tolerância das plantas micorrízicas à seca, pela utilização de água, pode ser por meio de genes funcionais reguladores, modulando o caminho de sinalização do ABA.

Por outro lado, a manutenção do  $CRA$  e a correlação negativa com  $\Psi_w$ , efeitos esperados do fechamento estomático, ocorreram de maneira inversa, ou seja, sem diferenças entre plantas inoculadas ou não, porém este cenário foi especialmente característico do experimento ABA-. Vários trabalhos relatam que sob déficit hídrico, o fechamento estomático pode estar mais associado com o ABA sintetizado na folha, mais precisamente nas próprias células-guardas, devido às maiores concentrações no órgão, além de ser afetado pelo genótipo da folha e não da raiz (MERILO et al., 2015; MANZI et al., 2016; McADAM et al., 2016), o que poderia explicar as indiferenças, já que aplicamos o ABA no substrato.

A ausência de efeitos das MAs, quando comparado às mudas controle, mesmo após a retomada da irrigação, também foi encontrado por Ouledali et al. (2018). A condutividade hidráulica das raízes pode não ser melhorada pela MA, e que isso depende

das condições experimentais, nível de estresse, crescimento das plantas, e características específicas das plantas às associações fúngicas (AUGÉ, 2001; BITTERLICH et al., 2018). Todavia, apontamos que queda na  $g_s$ , enquanto resposta ao estresse, ocorreu somente nas mudas micorrizadas, valendo evidenciar que quando avaliadas em R, essas mudas exibiram valores superiores de  $g_s$  em comparação às sem inoculação e, até mesmo às controle. Em vista disso, na prática, o que ocorreu foi efeito benéfico da interação dos fungos com as plantas de modo que estas expressaram em manutenção do  $CRA$  desde o estabelecimento do déficit (F), com retomada de  $g_s$  na recuperação.

Contudo, de maneira geral, no experimento ABA+, as mudas apresentaram menor  $CRA$ , na avaliação do déficit e recuperação, apesar da correlação positiva com  $\Psi_w$ , que levaria à assertiva de benefício por parte do regulador, mas na comparação entre os experimentos observou-se, na verdade, efeito negativo. Talvez o que possa ter ocorrido, como discutido por Kuromori et al. (2018), é a influência na condutância hidráulica da raiz pelo ABA, com regulação na atividade das aquaporinas, no qual, em momento inicial do estresse, aumenta-se a permeabilidade e eficiência à captação de água, no entanto, dependendo do nível e prolongamento da condição estressante, esta permeabilidade pode resultar em perda de água da raiz para o substrato, neste caso, há inibição da permeabilidade afetando as relações folha-água.

Resultados semelhantes aos nossos, foram apresentados por Astacio e Iersel (2011), que observaram murcha, apesar da redução da transpiração, nas folhas de tomateiro em alguns tratamentos com ABA exógeno. Os autores sugeriram que as concentrações não naturais de ABA, nestes episódios, foram muito elevadas, reduzindo a condutância radicular, o que dificultou o transporte da água para a parte aérea, por conseguinte menor  $CRA$ , obtendo então, murcha induzida pelo ABA.

Humplík et al. (2017), em sua revisão, confirmam que o papel do ABA exógeno em funções fisiológicas, apresenta curvas de dose-resposta não monotônicas. Propuseram então, que o controle nas respostas é dado pela sensibilidade de tecidos das plantas à dose do regulador, e enfatizaram que isso é ainda mais relevante no estudo do desenvolvimento de mudas juvenis, sendo importante a realização de investigações mais aprofundadas, com ferramentas de genética molecular, para esclarecimentos mais exatos sobre as características da espécie e concentrações do regulador a serem aplicadas.

É possível observar, que as informações obtidas com  $CRA$  foram oscilantes como comportamento geral, mas apontam que as características intrínsecas à espécie, enquanto respostas ao fator de estresse, foram predominantes às fontes de variação

impostas. Sendo assim, o  $g_s$  retratou de forma mais sólida essas respostas. Flexas et al. (2012), apresentam a discussão de vários autores a respeito de comparações entre  $CRA$  e  $g_s$  como indicadores de estresse hídrico, da qual o consenso foi que  $g_s$  padroniza as respostas entre variantes de tipos e condições de crescimento. Além disso, ao utilizarem  $g_s$  em vez de  $CRA$ , houve consenso sobre como o déficit progressivo regula os componentes da fotossíntese, permitindo a obtenção de um padrão comum de resposta.

As médias de  $g_s$  de todas as avaliações realizadas neste estudo, foram inferiores que  $0,15 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , considerado limiar de déficit hídrico (FLEXAS et al., 2012). Porém, é característica das espécies do Cerrado (fitofisionomia: Cerradão), sob seca, a esclerofilia, ou seja, desenvolvimento de tecidos protetores como esclerênquima, que resulta em folhas mais espessas, menores internamente com aumento de espaços intercelulares, além de características especializadas do xilema e arquitetura radicular (RIZZINI, 1997; MICCO e AROME, 2012). Segundo Galmés et al. (2007), as espécies de esclerofilia cumprem a regra de respostas lineares de  $g_s$  e, em contrapartida, parâmetros como  $A$ ,  $C_i$  e  $F_v/F_m$  apresentam repostas mais inconstantes.

Em nosso estudo, as taxas fotossintéticas foram reduzidas, de maneira geral, em F. A comparação entre as condições experimentais revelou certa tendência de maiores  $A$  em ABA+, especialmente, na inoculação com *R. clarum*, e menores taxas na inoculação com *R. heterosporum*. Todavia, em R, vê-se claramente o efeito benéfico das micorrizas com as duas espécies isoladas de FMAs em detrimento às mudas não inoculadas ou em simbiose com a mistura de espécies, sem o efeito significativo do regulador.

Geralmente, a fotossíntese pode ser afetada pela combinação de fatores estomáticos e não-estomáticos. Quando ocorrem reduções de  $g_s$  (estomático) abaixo de  $0,05 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , como também verificamos, considera-se estresse severo, que podem causar prejuízos na fotossíntese (FLEXAS et al., 2012). Segundo Zhang et al. (2018) em condições de seca, o aumento de  $C_i$  indica redução na fotossíntese foliar e que as micorrizas podem reduzir  $C_i$  (não-estomático). Esse comportamento foi notado, em nossos resultados, evidenciado pelas reduções de  $C_i$ , em F, com presença das MAs, sendo as diferenças entre os inóculos, dadas pelo ABA.

Em contrapartida, Kano et al. (2011) relataram que o fechamento dos estômatos também pode causar diminuição de  $C_i$ , resultando em declínio de  $A$ . Por certo, houve correlação, moderadamente, positiva entre  $g_s$  e  $C_i$ , e apesar de em F serem notadas discrepâncias nos valores de  $C_i$ , entre os experimentos e tratamentos, a recuperação foi completa, onde as mudas igualaram os valores às testemunhas, independentemente de

qualquer condição experimental. Por outro lado, a forte correlação positiva e altamente significativa entre  $A$  e  $g_s$ , tanto em ABA- quanto ABA+, e a não significância da correlação entre  $A$  e  $C_i$ , assinala os fatores estomáticos como principais da diminuição de  $A$ .

De acordo com Abid et al. (2018), a regulação adequada de condutância estomática e capacidade fotossintética são fatores fundamentais para a recuperação das plantas que experimentam o déficit hídrico. Após o período de estresse, a capacidade de recuperação das plantas possui relação direta, por meio do estímulo da reirrigação, com sinais elétricos acionados a partir do local de percepção do estímulo e transmitidos de maneira rápida a longas distâncias (órgãos, distais), que em conjunto com sinais hidráulicos e químicos, como ABA e  $Ca^{2+}$ , irão determinar a capacidade de recuperação das plantas (SZECHYNSKA-HEBDA et al., 2017; SILVA et al., 2020). Sendo assim, o aumento nos valores de  $A$  e  $g_s$  após a reirrigação, por efeito da inoculação com *R. heterosporum* e *R. clarum*, pode ter sido decorrente da indução micorrízica de repostas sistêmicas ao déficit hídrico, por meio de produção de sinal de estresse (BÁRZANA et al., 2015).

A relação fonte-dreno de carbono (C) entre planta e FMAs também possui efeitos nas taxas fotossintéticas. O uso de C vegetal pelo metabolismo fúngico, pode ser elevado suficiente para reduzir a fotossíntese e o crescimento das plantas (RYAN e GRAHAM, 2002). Por outro lado, altas taxas fotossintéticas encontradas em plantas micorrizadas, também podem ser provenientes de um gradiente de compensação deste consumo, em que a força do dreno criada pelos FMAs abaixo do solo, evita acúmulo de fotossintéticos e conseqüentemente, regulação negativa do processo da fotossíntese (GAVITO et al., 2019). Assim, os resultados de  $A$ , em nosso estudo, nas mudas inoculadas com *R. heterosporum* e *R. clarum*, indicam que estas espécies possivelmente possuem força de dreno suficiente para reduzirem  $A$ , temporariamente no déficit hídrico, mas auxiliar na regulação com estímulo fotossintético quando em condições de irrigação.

Segundo Fracasso et al. (2020), a atuação dos FMAs como dreno de C em alocar e eliminar produtos excessivos da fotossíntese, pode dissipar a energia em excesso evitando danos permanentes à bioquímica do cloroplasto e assim, aumentar a eficiência do FSII. Contudo, observamos redução de  $F_v/F_m$  e incrementos nos valores de  $F_0$ , sob déficit hídrico, em quase todos os tratamentos nas condições de déficit, com exceção da inoculação *On farm*, que manteve  $F_v/F_m$  nas mudas de *D. alata*. De acordo com Li et al.

(2010), essa combinação de resultados pode indicar dano no complexo de coleta de luz do FSII.

De acordo com Wu et al. (2019a), mesmo que ocorram diminuições em  $F_v/F_m$  ou, como em nosso caso, também elevações de  $F_0$ , as micorrizas podem não alterar outros parâmetros de fluorescência (*quenching*) da clorofila e o FSII não ser afetado, significativamente. Além disso os autores também observaram diferenças entre inóculos, mostrando que as espécies de FMAs possuem mecanismos diferentes de modulação do FSII, mas enfatizam que essas diferenças ainda não são totalmente explicadas. De qualquer modo, observamos restabelecimento geral desses parâmetros, sugerindo que não ocorreram danos irreversíveis ao FSII em virtude dos tratamentos de estresse aos quais as plantas foram submetidas.

O *IQD* mostrou que o equilíbrio na distribuição de massa e robustez das mudas de *D. alata*, quando da análise F, não foi afetado pelas diferenças entre experimentos, e pouco pelos tratamentos com FMAs. Bagheri et al. (2019), que também encontraram situação semelhante, explicam que o acúmulo de biomassa das plantas pode ser um processo ao longo do tempo, assim, o curto período de seca que aos quais as plantas foram submetidas pode não ter afetado, de modo mais significativo, a biomassa das mudas. De fato, verificamos este processo, como visto em outras variáveis, em que as mudas de *D. alata* manifestaram sensibilidade aos fatores de estudo somente na avaliação de recuperação, quando verificamos o padrão de resposta em que os resultados com maior destaque foram provenientes da inoculação com *R. heterosporum* e *R. clarum* sem aplicação de ABA.

O ABA sinalizado na endoderme, devido à estresses abióticos, pode promover crescimento radicular (TAIZ et al., 2017); quiescência radicular lateral (XIONG e SHEEN, 2013) ou inibição de crescimento (WEYERS e PATERSON, 2001), sendo este último, de ocorrência em grande parte dos casos em que há aplicação exógena (HUMPLÍK et al., 2017), com efeitos são dependentes da força e duração do estresse, bem como da concentração, como discutimos anteriormente. Essa inibição do crescimento radicular, dada pelo ABA exógeno, pode estar relacionada com os achados de Calabrese e Blain (2009), sobre a expressão genética na indução de suberização da endoderme, restringindo o movimento apoplástico da solução do solo, em resposta ao tratamento com o regulador vegetal. Como aplicamos o ABA no substrato, estes efeitos podem ter sido ainda mais relevantes, proporcionando o menor *IQD* que ABA-.

A simbiose com MAs pode aumentar, como um todo, o crescimento das plantas com incrementos da espessura e comprimentos das raízes, área foliar, biomassa, captação de água, macro e micronutrientes, pela disseminação das redes hifais e excreção de glomalina, em secas de todos os níveis (DAVIES et al., 2002; GHOLAMHOSEINI et al., 2013). A qualidade das mudas foi, portanto, aprimorada pelas duas espécies de FMAs, mesmo nas testemunhas sem a condição de estresse.

A maior tolerância ao déficit, como mostrada com  $g_s$  e  $A$ , com esses inóculos, pode estar relacionada à melhoria no crescimento e vice-versa. A análise de correlação exhibe, claramente, estas relações. Nossa especulação está em concordância com outros trabalhos como o de Wu e Xia et al. (2006) com tangerina (*Citrus tangerine* Blanco); Zhu et al. (2014) com acácia-bastarda (*Robinia pseudoacacia* L.) e Zhang et al. (2018) com mamona (*Ricinus communis* L.).

De acordo com Gerdemann (1968), a dependência micorrízica é o grau em que uma planta depende da condição micorrízica para promover seu crescimento ou rendimento máximo, ou como em nossa adaptação,  $IQD$  máximo das mudas, em um determinado nível de fertilidade do solo, especialmente, mediada pelo fósforo (MENGE et al., 1978). Em F, nota-se que os valores de  $RFMD$ , foram próximos à zero, nulos ou negativos.

Plenchette et al. (1983), ao desenvolverem o  $RFMD$ , explicaram que a interpretação, nos casos onde há dependência nula, é devido à não diferença significativa entre os parâmetros de crescimento das plantas MA+ e MA-. Por conseguinte, valores negativos mostram maior crescimento de plantas MA- ou efeitos deletérios dos FMAs. Acreditamos que este resultado específico sobrepõe o que foi discutido para a fotossíntese, sobre a potencialidade dessas espécies de FMAs em colonizar as plantas de *D. alata*, mas também em requerer carbono dos hospedeiros, podendo causar redução no crescimento.

De qualquer forma, cabe ressaltar ter sido temporária e de diminuta amplitude a queda da qualidade pelos FMAs, já que em R as mudas demonstraram alta dependência da simbiose para sua qualidade, mantendo o padrão de resposta citado anteriormente. Miranda et al. (2011), também perceberam este comportamento em plantas de *Physalis peruviana* L. sob estresse salino, em que os índices de  $RFMD$  foram baixos no início, evoluindo paralelamente, à idade das plantas até atingirem o pico aos 61 dias de avaliação.

Outrossim, a *D. alata* se mostrou exigente, especialmente, em P e N (nitrogênio) para acúmulo de biomassa (SOUSA et al., 2018), e apresentou respostas de

*IQD* lineares crescentes à diferentes doses de P, principalmente, quando acompanhado da adubação nitrogenada (PINHO et al., 2019). Alguns estudos mostram que a captação e relação de N e P, nas plantas, são aprimoradas pela inoculação com FMAs, influenciando diretamente o crescimento (BERTA et al., 2014; KANDHASAMY et al., 2020). Bitterlich et al. (2019), constataram que as taxas fotossintéticas em plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* cv. “Moneymaker”) foram influenciadas pelas diferenças nas concentrações de N e P nas folhas, mediante efeitos das MAs na absorção desses nutrientes, o que também pode influenciar no crescimento.

A frequência de colonização não foi afetada pelas condições experimentais, que controlamos, sendo que em todos os casos houve 100% de *F%* (dados não mostrados). Segundo Vivas et al. (2018) esse parâmetro micorrízico está mais relacionado com a química do solo, tendo o N papel importante, já que sua maior disponibilidade influi negativamente na qualidade das raízes finas e, conseqüentemente, no habitat dos FMAs.

Para os demais parâmetros micorrízicos (*M%*, *m%*, *A%*, e *a%*), houve aumento e/ou manutenção dos valores, na avaliação F, nas plantas em condição de restrição hídrica em detrimento das periodicamente irrigadas. Em relação à aplicação de ABA, com exceção de *a%* onde não foram detectadas diferenças, sob déficit hídrico, sendo que o ABA exógeno foi revelado como potencializador da colonização, especialmente, nas espécies de *Rizhoglomus*. Mais tarde, na avaliação de R houve queda nos valores desses parâmetros, com ressalva para *R. heterosporum* que manteve semelhança aos de F em ambos os experimentos. De outro modo, vale ressaltar que *R. clarum* no experimento ABA-, em todas os momentos de avaliação, apresentou valores igualmente elevados de *M%*, *m%*, *A%* e *a%*.

As respostas em colonização dos FMAs nas plantas sob condições de déficit hídrico são controversas, podendo ser reduzida, como observado por Wu et al. (2019b) em mudas de laranja (*Poncirus trifoliata* L.) e Langeroodi et al. (2020), com chicória (*Cichorium intybus* L.); dependente do nível de estresse, no arroz (*Oryza sativa* L.) (CHAREESRI et al., 2020), em que no menor nível houve maior colonização que no estresse mais severo; independentemente do nível de estresse, em milho (*Zea mays* L.) (Le PIOUFLE et al., 2019); ou aumentada (ZHAO et al., 2015), também no milho, e em mudas de acácia (*Acacia etbaica* Schweinf.) (BIRHANE et al., 2013), corroborando com nossos resultados, e uma vez que a acácia pertence à mesma família da *D. alata* –

Fabaceae – a resposta semelhante, neste sentido, pode ser decorrente de características próprias da família.

Ainda neste contexto, pode ser levado em consideração a afinidade entre as espécies FMAs, que também podem ser mais ou menos eficazes na infecção e a *D. alata* (dependência micorrízica). O aumento que encontramos ainda pode ser em consequência das características do substrato, como já discutido e também visto por Zhao et al. (2015), porém com adendo em sua observação em relação à melhor porosidade e menor compactação geral, influenciando no aumento de colonização.

De acordo com Bagheri et al. (2019), a maior colonização, mesmo sob déficit hídrico, pode ser devido à inoculação ter sido realizada antes da suspensão da rega e então, o período de exposição ao estresse foi hipossuficiente em afetar a colonização micorrízica que, provavelmente, já devia ter atingido uma certa extensão. A Figura 9 mostra hifas crescendo intracelularmente no córtex radicular. Isto segundo Hussin et al. (2017), mostra que após a colonização das raízes, a simbiose permaneceu estável, servindo de base para benefícios aos hospedeiros e fungos a longo prazo, ainda que em possíveis condições adversas.

O estudo de Herrera-Medina et al. (2007) evidenciou que o ABA exógeno, aplicado no substrato, participou na suscetibilidade das plantas de tomate à infecção por fungos micorrízicos e foi importante no processo de formação completa e funcionalidade dos arbúsculos. Assim como em nosso trabalho, estes autores verificaram pouca influência do ABA exógeno na *F%*, e maior em *M%*. Estes efeitos corroboram e ficam ainda mais evidentes com a RDA. Liu et al. (2019) relataram o efeito direto e promotor do ABA na colonização desde as fases assimbióticas e pré-simbióticas, através da detecção de esporos em germinação e tubos germinativos dos FMAs do regulador vegetal. Essas e outras investigações mostraram também a regulação de genes pelo ABA, sustentando a colonização e a eficiência simbiótica em condições de estresse por seca, de várias formas, inclusive com a supressão da imunidade das plantas (AROCHA et al., 2008a; PESKAN-BERGHÖFER et al., 2015).

Diante do exposto, é possível concordar que houve efeito direto do ABA aplicado, na promoção da colonização. Entretanto, como foi visto, este efeito não refletiu igualmente na plasticidade das plantas de *D. alata* à condição de estresse, o que identificaria o efeito indireto do regulador, portanto, nossa hipótese inicial foi parcialmente atendida.

Sendo o fitormônio do estresse, provavelmente o ácido abscísico endógeno também pode ter influenciado neste processo. Como revisado por López-Ráez (2016), o conteúdo interno de ABA nas plantas micorrizadas pode ser aumentado, promovendo a tolerância ao estresse ou diminuído, sugerindo que as plantas micorrizadas são menos estressadas. Ruiz-lozano et al. (2009) não observaram melhoras nos níveis de ABA, em plantas de milho MA+ submetidas à seca após a adição exógena. Aroca et al. (2008b), observaram que o fenótipo ABA da planta (endógeno) de fato mediou os efeitos da simbiose com MA nas respostas das plantas ao déficit hídrico, e He et al. (2019) identificaram reduções, pela inoculação com FMAs, das concentrações do fitormônio nas raízes das mudas de laranja, nos dois regimes hídricos (controle e déficit), indicando que a simbiose reduziu o requisito de ABA, sob o estresse, pela eficiência em atenuar os danos induzidos pela seca.

De fato, foi evidenciado pela RDA, que a abundância de arbúsculos nos fragmentos ( $a\%$ ), ou seja, observações à nível das repetições, estava mais relacionada de maneira geral, com o experimento ABA-. Contudo, independentemente de como se deu o metabolismo do fitormônio e sua regulação pelos FMAs e hospedeiros, acreditamos que era suficiente e equilibrado, resultando em desenvolvimento estável da MA. Sendo assim, a adição do regulador, apesar de cumprir seu papel esperado com efeito direto e promotor nos fungos e sua colonização, pode ter interferido na homeostase do ABA endógeno e outros fitormônios das plantas, não aprimorando ou atuando negativamente, no metabolismo das mudas em resposta ao déficit hídrico.

Na análise comparativa de eficiência de colonização entre os três inóculos de FMAs estudados, apesar dos parâmetros de colonização mostrarem semelhanças entre os três ou, por vezes, tendências a algum deles, no conjunto de colonização mais efeitos promotores para as plantas hospedeiras, em resposta ao déficit hídrico, torna-se possível a conclusão de que as duas espécies de *Rhizoglyphus* foram semelhantes entre si e melhores, como um todo, que a mistura de espécies (*On farm*). Nossos resultados são consistentes com os de Amiri et al. (2017), levantando a possibilidade de que o máximo de benefícios para as plantas podem ser provenientes de uma única espécie de FMA e vice-versa, podendo na mistura conter uma ou mais espécies de fungos que não sejam eficazes para as plantas.

Com nosso estudo foram levantadas informações antes não exploradas para *D. alata*, pelo menos não na interação dos fatores e variáveis estudadas. A *D. alata* apresentou diversos mecanismos de tolerância ao déficit hídrico, como equilíbrio nas

relações hídricas, ajustes no metabolismo fotossintético e crescimento. Neste contexto, se pode incluir o potencial adaptativo da espécie (e até mesmo da família) para o estabelecimento de simbiose micorrízica arbuscular. Este fato, cria oportunidade na utilização de inóculos de FMAs comerciais ou produzidos *in loco* como técnica de manejo na produção de suas mudas, melhorando sua qualidade. O ABA aplicado de maneira exógena foi importante para elucidarmos fatos da interação com os FMAs e sua colonização em *D. alata*. Por outro lado, mostrou menor significância nas respostas da espécie, que somado ao custo elevado desse regulador não seria interessante como parte do manejo sustentável de mudas de *D. alata*.

## 5 CONCLUSÃO

As mudas de *Dipteryx alata* apresentam sensibilidade ao déficit hídrico, porém são resilientes, equilibrando suas relações hídricas, ajustando metabolismo fotossintético e o crescimento inicial.

O ABA exógeno aplicado no substrato, apresenta efeito direto e benéfico na colonização dos fungos micorrízicos arbusculares, mas não influencia como efeito indireto na tolerância das mudas de *D. alata* ao déficit hídrico.

A inoculação com FMAs, especialmente com *Rhizoglonus clarum* e *heterosporum*, favorece o metabolismo fotossintético e qualidade das mudas de *D. alata*, sendo mais eficientes em se ajustar e resistir ao déficit hídrico.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABID, M.; ALI, S.; QI, L. K.; ZAHOOR, R.; TIAN, Z.; JIANG, D.; SNIDER, J. L.; DAI, T. Physiological and biochemical changes during drought and recovery periods at tillering and jointing stages in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Scientific Reports**, v. 8, n. 4615, p. 1–15, 2018.

ADDINSOFT. XLSTAT **statistical and data analysis solution** versão 2019. Long Island, NY. Disponível em: <<https://www.xlstat.com>>

AMIRI, R.; RAHIMMELK, A. N. M.; HOSSEINI, H. Variation in the essential oil composition, antioxidant capacity, and physiological characteristics of *Pelargonium graveolens* L. inoculated with two species of mycorrhizal fungi under water deficit conditions. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 36, n. 2, p. 502-515, 2017.

AROCA, R.; ALGUACIL M.; VERNIERI, P.; RUIZ-LOZANO, J. M. Plant responses to drought stress and exogenous ABA application are differently modulated by mycorrhization in tomato and na ABA-deficient mutant (*sitiens*). **Microbial Ecology**, v. 56, n. 704, p. 704–719, 2008b.

AROCA, R.; VERNIERI, P.; RUIZ-LOZANO, J. M. Mycorrhizal and non-mycorrhizal *Lactuca sativa* plants exhibit contrasting responses to exogenous ABA during drought stress and recovery. **Journal of Experimental Botany**, v. 59, n. 8, p. 2029–2041, 2008a.

ASTACIO, M. G.; IERSEL, M. W. van. Concentrated exogenous abscisic acid drenches reduce root hydraulic conductance and cause wilting in tomato. **HortScience**, v. 46, n. 12, p. 1640-1645, 2011.

AUDENAERT, K.; DE MEYER, G. B.; HÖFTE, M. M. Abscisic acid determines basal susceptibility of tomato to *Botrytis cinerea* and suppresses salicylic acid-dependent signaling mechanisms. **Plant Physiology**, v. 128, n. 2, p. 491–501, 2002.

AUGÉ, R. M. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Mycorrhiza**, v. 11, n. 1, p. 3-42, 2001.

AUGÉ, R. M.; TOLER, H. D.; SAXTON, A. M. Mycorrhizal stimulation of leaf gas exchange in relation to root colonization, shoot size, leaf phosphorus and nitrogen: a quantitative analysis of the literature using meta-regression. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1084, 2016.

BAGHERI V.; SHAMSHIRI, M. H.; ALAEI, H.; SALEHI, H. The role of inoculum identity for growth, photosynthesis, and chlorophyll fluorescence of zinnia plants by arbuscular mycorrhizal fungi under varying water regimes. **Photosynthetica**, v. 57, n. 2, p. 409–419, 2019.

BARBOSA, J. C.; MALDONADO JUNIOR, W. **AgroEstat: sistema para análises estatísticas de ensaios agronômicos**. Jaboticabal: FCAV/UNESP, 2015. 396p.

BERTA, G.; COPETTA, A.; GAMALERO, E.; BONA, E.; CESARO, P.; SCARAFONI A.; D'AGOSTINO, G. Maize development and grain quality are differentially affected by mycorrhizal fungi and a growth-promoting pseudomonad in the field. **Mycorrhiza**, v. 24, n. 3, p. 161–170, 2014.

BÁRZANA, G.; AROCA, R.; RUIZ-LOZANO, J. M. Localized and non-localized effects of arbuscular mycorrhizal symbiosis on accumulation of osmolytes and aquaporins and on antioxidant systems in maize plants subjected to total or partial root drying. **Plant, Cell and Environment**, v. 38, n. 8, p. 1613-1627, 2015.

BIRHANE, E.; STERCK, F.J.; BONGERS, F.; KUYPER, T.W. Arbuscular mycorrhizal impacts on competitive interactions between *Acacia etbaica* and *Boswellia papyrifera* seedlings under drought stress. **Journal of Plant Ecology**, v. 7, n. 3, p. 1–11, 2013.

BITTERLICH, M.; FRANKEN, P.; GRAEFE, J. Arbuscular mycorrhiza improves substrate hydraulic conductivity in the plant available moisture range under root growth exclusion. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 301, 2018.

BITTERLICH, M.; FRANKEN, P.; GRAEFE, J. Atmospheric drought and low light impede mycorrhizal effects on leaf photosynthesis – a glasshouse study on tomato under naturally fluctuating environmental conditions. **Mycorrhiza**, v. 29, n. 1, p. 13–28, 2019.

BONI, T. S.; MALTONI, K. L.; MIZOBATA, K. K. G. S da. *Dipteryx alata* seedlings nutritional status in a recovery area in the Brazilian Savannah. **Floresta e Ambiente**, v. 27, n. 2, 2020.

BRUNDRETT, M. C.; PICHÉ, Y.; PETERSON, R. L. A developmental study of the early stages in vesicular–arbuscular mycorrhiza formation. **Canadian Journal of Botany**, v. 63, n. 2, p. 184-194, 1985.

CALABRESE, E. J.; BLAIN, R. B. Hormesis and plant biology. **Environmental Pollution**, v. 157, n. 1, p. 42–48, 2009.

CHAREESRI, A.; DEYN, G. B. de.; SERGEEVA, L.; POLTHANEE, A.; KUYPER, T. W. Increased arbuscular mycorrhizal fungal colonization reduces yield loss of rice (*Oryza sativa* L.) under drought. **Mycorrhiza**, v. 30, n. 2, p. 315, 2020.

DAI, A. Drought under global warming: a review. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Climate Change**, v. 2, n. 1, p. 45-65, 2011.

DAVIES F. T. JR.; OLALDE-PORTUGAL V.; AGUILERA-GOMEZ L.; ALVARADO, M. J. FERRERA-CERRATO, R. C.; BOUTTON, T. W. Alleviation of drought stress of Chile ancho pepper (*Capsicum annum* L. cv. San Luis) with arbuscular mycorrhiza indigenous to Mexico. **Scientia Horticulturae**, v. 92, n. 3-4, p. 347–359, 2002.

DICKSON, A.; LEAF, A. L.; HOSNER, J. F. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. **Forestry Chronicle**, v. 36, n. 1, p. 10-13, 1960.

DOUBKOVÁ, P.; VLASÁKOVÁ, E.; SUDOVÁ, R. Arbuscular mycorrhizal symbiosis alleviates drought stress imposed on *Knautia arvensis* plants in serpentine soil. **Plant and Soil**, v. 370, n. 1-2, p. 149-161, 2013.

DURIGAN, G.; PILON, N. A. L.; ASSIS, G. B.; SOUZA, F. M.; BAITELLO, A. A. **Plantas pequenas do Cerrado: biodiversidade negligenciada**. São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente. 2018. 720 p.

FELFILI, J.M.; NOGUEIRA, P.E.; SILVA-JUNIOR, M.C. Composição florística e fitossociologia do Cerrado sentido restrito no município de Agua Boa-MT. **Acta Botanica Brasilica**, v. 16, n. 1, p. 103-112, 2002.

FESTER, T.; HAUSE, B. Drought and symbiosis: why is abscisic acid necessary for arbuscular mycorrhiza?. **New Phytologist**, v. 175, p. 383-386, 2007.

FLEXAS, J.; GALLÉ, A.; GALMÉS, J.; RIBAS-CARBO, M.; MEDRANO, H. The response of photosynthesis to soil water stress. In: AROCA, R. (Ed.). **Plant responses to drought stress**. Heidelberg: Springer, 2012. p. 129-144.

FRACASSO, A.; TELÒ, L.; LANFRANCO, L.; BONFANTE, P.; AMADUCCI, S. Physiological beneficial effect of *Rhizophagus intraradices* inoculation on tomato plant yield under water deficit conditions. **Agronomy**, v. 10, n. 1, p. 71, 2020.

GALMÉS, J.; FLEXAS, J.; SAVÉ, R.; MEDRANO, H. Water relations and stomatal characteristics of Mediterranean plants with different growth forms and leaf habits: responses to water stress and recovery. **Plant and Soil**, v. 290, n. 1-2, p. 139-155, 2007.

GAVITO, M. E.; JAKOBSEN, I.; MIKKELSEN, T. N.; MORA, F. Direct evidence for modulation of photosynthesis by an arbuscular mycorrhiza-induced carbon sink strength. **New Phytologist**, v. 223, n. 2, p. 896–907, 2019.

GERDEMANN, J. W. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and plant growth. **Annual Review of Phytopathology**, v. 6, n. 1, p. 397-418, 1968.

GHOLAMHOSEINI M.; GHALAVAND A.; DOLATABADIAN, A.; JAMSHIDI, E.; KHODAEI-JOGHAN, A. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on growth, yield, nutrient uptake and irrigation water productivity of sunflowers grown under drought stress. **Agricultural Water Management**, v. 117, p.106–114, 2013.

HE, J. D.; DONG, T.; WU, H. H.; ZOU, Y. N.; WU, Q. S.; KUA, K. Mycorrhizas induce diverse responses of root TIP aquaporin gene expression to drought stress in trifoliolate orange. **Scientia Horticulturae**, v. 3, p. 243: 64–69, 2019.

HERRERA-MEDINA, M. J.; STEINKELLNER, S.; VIERHEILIG, H.; BOTE, J. A. O.; GARRIDO, J. M. G. Abscisic acid determines arbuscule development and functionality in the tomato arbuscular mycorrhiza. **New Phytology**. 175, n. 3, p. 554-564, 2007.

HOSSAIN, M. A.; WANI, S. H.; BHATTACHARJEE, S.; BURRITT, D. J.; TRAN, L. P. (Eds.). **Drought stress tolerance in plants: physiology and biochemistry**. Switzerland: Springer, 2016, v. 1, 516p.

HUMPLÍK, J. F.; BERGOUGNOUX, V.; VAN VOLKENBURGH, E. To stimulate or inhibit? That is the question for the function of abscisic acid. **Trends in Plant Science**, v. 22, n. 10, p. 830-841, 2017.

HUSSIN, S.; KHALIFA, W.; GEISSLER, N.; KOYORO, H. W. Influence of the root endophyte *Piriformospora indica* on the plant water relations, gas exchange and growth of *Chenopodium quinoa* at limited water availability. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 203, n. 5, p. 373-384, 2017.

JIANG, Y.; WANG, W.; XIE, Q.; LIU, N.; LIU, L.; WANG, D.; ZHANG, X.; YANG, C.; CHEN, X.; TANG, D. Plants transfer lipids to sustain colonization by mutualistic mycorrhizal and parasitic fungi. **Science**, v. 356, n. 6343, p. 1172-1175, 2017.

KANDHASAMY, N.; RAVICHANDRAN, K. R.; THANGAVELU, M. Interactive influence of soil and plant genotypes on mycorrhizal dependency in finger millet. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 20, p. 1287-1297, 2020.

KANO M.; INUKAI, Y.; KITANO, H.; YAMAUCHI A. Root plasticity as the key root trait for adaptation to various intensities of drought stress in rice. **Plant Soil**, v. 342, p. 117-128, 2011.

KUROMORI, T.; SEO, M.; SHINOZAKI, K. ABA transport and plant water stress responses. **Trends in Plant Science**, v. 23, n. 6, p. 513-522, 2018.

LANGEROODI, A. R. S.; OSIPITAN, O. A.; RADICETTI, E.; MANCINELLI, R. To what extent arbuscular mycorrhiza can protect chicory (*Cichorium intybus* L.) against drought stress. **Scientia Horticulturae**, v. 263, n. 109109, p. 1-10, 2020.

LE PIOUFLE, O.; GANOUDI, M.; CALONNE-SALMON, M.; DHAOU, F. B.; DECLERCK, S. *Rhizophagus irregularis* MUCL 41833 improves phosphorus uptake and water use efficiency in maize plants during recovery from drought stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 897, 2019.

LEMOS, M. R. B.; SIQUEIRA, E. M. A.; ARRUDA, S. F.; ZAMBIAZI, R. C. The effect of roasting on the phenolic compounds and antioxidant potential of baru nuts (*Dipteryx alata* Vog.). **Food Research International**, v. 48, n. 2, p. 592-597, 2012.

LI G.; WAN S.; ZHOU J. Leaf chlorophyll fluorescence, hyperspectral reflectance, pigments content, malondialdehyde and proline accumulation responses of castor bean (*Ricinus communis* L.) seedlings to salt stress levels. **Industrial Crops Products**, v. 31, n. 1, p. 13-19, 2010.

LIU, X.; FENG, Z.; ZHU, H.; YAO, Q. Exogenous abscisic acid and root volatiles increase sporulation of *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198 in asymbiotic and pre-symbiotic status. **Mycorrhiza**, v. 29, n. 6, p. 581-589, 2019.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 5. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 368 p.

LÓPEZ-RÁEZ, J. A. How drought and salinity affect arbuscular mycorrhizal symbiosis and strigolactone biosynthesis?. **Planta**, v. 243, n. 6, p. 1375-1385, 2016.

MALTAROLO, B. M.; LIMA, E. G. S. da; NASCIMENTO, V. R. do; CARDOSO, K. P. S.; BRITO, A. E. A.; OLIVEIRA, T. B. de; NOGUEIRA, G. A. S.; SILVA, K. R. S.; ATAÍDE, W. L. S.; NETO, C. F. O.; JUNIOR, W. V. A.; FILHO, B. G. S. Chlorophyll, nitrogen and antioxidant activities in cumaru (*Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd) (Fabaceae) in two water regimes. **African Journal of Biotechnology**, v. 15, n. 44, p. 2480-2489, 2016.

MANZI, M.; LADO, J.; RODRIGO, M. J.; ARBONA, V.; GÓMEZ-CADENAS, A. ABA accumulation in water-stressed *Citrus* roots does not rely on carotenoid content in this organ. **Plant Science**, v. 252, p. 151-161, 2016.

MARTINOTTO, F.; MARTINOTTO, C.; AZEVEDO, R. A.; ALBUQUERQUE, M. C. F. Survival and initial growth of tree species native to the Cerrado intercropped with cassava. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 1, p. 22-29, 2012.

MATOS, F. S.; FREITAS, I. A. S.; SANTOS, L. V. B dos.; VENÂNCIO, D. G.; SILVEIRA, P. S. da. Initial growth of *Dipteryx alata* plants under water deficit. **Revista Árvore**, v. 42, n. 1, p. 1-8, 2018.

McADAM, S. A. M.; MANZI, M.; ROSS, J. J. BRODRIBB, T. J. Uprooting an abscisic acid paradigm: shoots are the primary source. **Plant signaling & behavior**, v. 11, n. 6, p. 652-659, 2016.

MENGE, J.; GERDERMANN, J. W.; LEMBRIGHT, H. W. Mycorrhizal fungi and citrus beneficial effects. **Citrus Industry Magazine**, v. 56, p. 16-18, 1975.

MERILO, E.; JALASKA, P.; LAANEMETS, K.; MOHAMMADI, O.; HORAK, H.; KOLLIST, H.; BROSCHE, M. Abscisic acid transport and homeostasis in the context of stomatal regulation. **Molecular plant**, v. 8, n. 9, p. 1321-1333, 2015.

MICCO, V. de.; ARONNE, G. Morpho-anatomical traits for plant adaptation to drought. In: AROCA, R. (Ed.). **Plant responses to drought stress**. Heidelberg: Springer, 2012. p. 37-61.

MINE, A. Multifaceted involvement of abscisic acid in plant interactions with pathogenic and mutualistic microbes. In: SEO, M.; MARION-POLL, A. **Advances in botanical research**. Academic Press, 2019. v. 92. p. 219-253.

Ministério do Meio Ambiente (MMA) (2018). Plano de ação para prevenção e controle do desmatamento e das queimadas no Cerrado (PPCerrado) e plano de ação para prevenção e controle do desmatamento na Amazônia Legal (PPCDAm): fase 2016-2020 Brasília: MMA.

MIRANDA, D.; FISCHER, G.; ULRICHS, C. The influence of arbuscular mycorrhizal colonization on the growth parameters of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) plants grown in a saline soil. **Journal of soil science and plant nutrition**, v. 11, n. 2, p. 18-30, 2011.

MIRANDA, J. C. C. **Cerrado**: Micorriza arbuscular, ocorrência e manejo. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2008. 169p.

OULEDALI, S.; ENNAJEH, M.; ZRIG, A.; GIANINAZZI, S.; KHEMIRA, H. Estimating the contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to drought tolerance of potted olive trees (*Olea europaea*). **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 40, n. 5, p. 81, 2018.

PALHARES, D.; FRANCO, A. C.; ZAIDAN, L. B. P. Respostas fotossintéticas de plantas de Cerrado nas estações seca e chuvosa. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, n. 2, p. 213-220, 2010.

PESKAN-BERGHÖFER, T.; VILCHES-BARRO, A.; MÜLLER, T. M.; GLAWISCHNIG, E.; REICHEL, M.; GERSHENZON, J.; RAUSCH, T. Sustained exposure to abscisic acid enhances the colonization potential of the mutualist fungus *Piriformospora indica* on *Arabidopsis thaliana* roots. **New Phytologist**, v. 208, n. 3, p. 873-886, 2015.

PINHO, E. K. C.; COSTA, A. C.; VILAR, C. C.; SOUZA, M. E de.; SILVA, A. B. V.; OLIVEIRA, C. H. G de. Phosphate and nitrogen fertilization in the production of barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) seedlings. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 41, n. 6, p. 1-11, 2019.

PLENCHETTE, C.; FORTIN, J. A.; FURLAN, V. Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. **Plant and Soil**, v. 70, n. 2, p. 199-209, 1983.

RANA, R. M.; REHMAN, S. U.; AHMED, J.; BILAL, M. A comprehensive overview of recent advances in drought stress tolerance research in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Asian Journal of Agriculture and Biology**, v. 1, p. 29-37, 2013.

RAPPARINI, F.; PEÑUELAS, J. Mycorrhizal fungi to alleviate drought stress on plant growth. In: MIRANSARI M. (Ed.). **Use of microbes for the alleviation of soil stresses**. New York: Springer. 2014. pp. 21-42.

REDECKER, D.; KODNER, R.; GRAHAM, L. E. Glomalean fungi from the Ordovician. **Science**, v. 289, n. 5486, p. 1920-1921, 2000.

RIZZINI, C. T. **Tratado de fitogeografia do Brasil**: aspectos ecológicos, sociológicos e florísticos. Rio de Janeiro: Ambito Cultural. 1997. 747p.

RUIZ-LOZANO, J. M.; ALGUACIL, M. M. del.; BÁRZANA, G.; VERNIERI, P.; AROCA, R. Exogenous ABA accentuates the differences in root hydraulic properties between mycorrhizal and non mycorrhizal maize plants through regulation of PIP aquaporins. **Plant Molecular Biology**, v. 70, n. 5, p. 565, 2009.

RUIZ-LOZANO, J. M.; AROCA, R. Host response to osmotic stresses: stomatal behaviour and water use efficiency of arbuscular mycorrhizal plants. In: KOLTAI, H; KAPULNIK, Y (Eds.). **Arbuscular mycorrhizas: physiology and function**. Nova York: Springer, 2010. p. 239-256.

RUIZ-LOZANO, J. M.; PORCEL, R.; BÁRZANA, G.; AZCÓN, R.; AROCA, R. Contribution of arbuscular mycorrhizal symbiosis to plant drought tolerance: state of the

art. In: AROCA, R. (Ed.). **Plant responses to drought stress**. Heidelberg: Springer, 2012. p. 335-362.

RYAN, M. H.; GRAHAM, J. H. Is there a role for arbuscular mycorrhizal fungi in production agriculture? **Plant and Soil**, v. 244, n.1, p. 263–271, 2002.

SLATYER, R. O. **Plant-water relationships**. London: Academic Press. 1967. 366p.

SALEHI-LISAR, S. Y.; BAKHSHAYESHAN-AGDAM, H. Drought stress in plants: causes, consequences, and tolerance. In: Hossain M.; Wani S.; Bhattacharjee S.; Burritt D.; Tran LS. (Eds.). **Drought Stress Tolerance in Plants**, Vol 1. Cham: Springer. 2016. pp. 1-16.

SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; COELHO, M. R.; LUMBRERAS, J. F.; CUNHA, T. J. F. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos. 2013. 306p.

SCHWEIGER, R.; BAIER, MC.; MÜLLER, C. Arbuscular mycorrhiza-induced shifts in foliar metabolism and photosynthesis mirror the developmental stage of the symbionts and are only partly driven by improved phosphorus uptake. **Molecular Plant–Microbe Interactions**, v. 27, n. 12, p. 1403–1412, 2014.

SILVA, F. B.; MACEDO, F. C. O.; DANELUZZI, G. S.; CAPELIN, D.; SILVA, A. R.; MÜLLER, C.; OLIVEIRA, R. F. de. Action potential propagation effect on gas exchange of ABA-mutant microtomato after re-irrigation stimulus. *Environmental and Experimental Botany*, v. 178, p. 104-149, 2020.

SIQUEIRA E. M.A.; MARIN, A. M. F.; CUNHA, M. S. B.; FUSTINONI, A. M. SANT'ANA, L. P.; ARRUDA, S. F. Consumption of baru seeds [*Dipteryx alata* Vog.], a Brazilian savanna nut, prevents iron-induced oxidative stress in rats. **Food Research International**, v. 45, n. 1, p. 427-433, 2012.

SMART, R.; BINGHAM, G. E. Rapid estimates of relative water content. **Plant Physiology**, v. 53, n. 1, p. 258-260, 1974.

SOARES, T. N.; CHAVES, J. L.; TELLES, M. P. C, DINIZ-FILHO, J. A. F.; RESENDE, L. V. Spatial distribution of intrapopulational genetic variability in *Dipteryx alata*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 9, p. 1151-1158, 2008.

SOUSA, F. F.; BRAGA, R. M.; NELSON VENTURIN, N.; MACEDO, R. L. G.; CARLOS, L.; VENTURIN, R. P. Exigências nutricionais de mudas de *Dipteryx alata* sob limitação nutricional. **Ciência Florestal**, v. 28, n. 1, p. 102-114, 2018.

SOUZA, C. C.; OLIVEIRA, F. A.; SILVA, I. F.; AMORIM NETO, M. S. Evaluation of methods of available water determination and irrigation management in "terra roxa" under cotton crop. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, n. 3, p. 338-342, 2000.

SZECZYNSKA-HEBDA, M.; LEWANDOWSKA, M.; KARPINSKI, S. Electrical signaling, photosynthesis and systemic acquired acclimation. **Frontiers in Physiology**, v. 8, n. 684, p. 1-14, 2017.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858p.

VERA, R.; SOARES JUNIOR, M. S.; NAVES, R. V.; SOUZA, E. R. B.; FERNANDES, E. P.; CALIARI, M.; LEANDRO, W. M. Características químicas de amêndoas de barueiros (*Dipteryx alata* Vog.) de ocorrência natural no Cerrado do Estado de Goiás, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 1, p. 112- 118, 2009.

WEYERS, J. D. B.; PATERSON, N. W. Plant hormones and the control of physiological processes. **New Phytologist**, v. 152, n. 3, p. 375–407, 2001.

WU, C.; WEI, Q.; DENG, J.; ZHANG, W. Changes in gas exchange, root growth, and biomass accumulation of *Platyclusus orientalis* seedlings colonized by *Serendipita indica*. **Journal of Forestry Research**, v. 30, n. 4, p. 1199-1207, 2019a.

WU, Q. S.; W.; HE, J. D.; SRIVASTAVA, A. K.; ZOU, Y. N.; KUČA, K. Mycorrhizas enhance drought tolerance of citrus by altering root fatty acid compositions and their saturation levels. **Tree Physiology**, v. 39, n. 7, p. 1149-1158, 2019b.

WU, Q. S.; XIA, R. X. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. **Journal of Plant Physiology**, v. 163, n. 4, p. 417–425, 2006.

XIONG, Y.; SHEEN, J. Moving beyond translation: glucose–TOR signaling in the transcriptional control of cell cycle. **Cell Cycle**, v. 12, n. 13, 1989–1990, 2013.

XU, L.; LI, T.; WU, Z.; FENG, H.; YU, M.; ZHANG, X.; CHEN, B. Arbuscular mycorrhiza enhances drought tolerance of tomato plants by regulating the 14-3-3 genes in the ABA signaling pathway. **Applied Soil Ecology**, v. 125, p. 213-221, 2018.

ZHANG, T.; HU, Y.; ZHANG, K.; TIAN, C.; GUO, J. Arbuscular mycorrhizal fungi improve plant growth of *Ricinus communis* by altering photosynthetic properties and increasing pigments under drought and salt stress. **Industrial Crops and Products**, v. 117, 13–19, 2018.

ZHAO, R.; GUO, W.; BI, N.; GUO, J.; WANG, L. J.; ZHAO, J.; ZHANG, J. Arbuscular mycorrhizal fungi affect the growth, nutrient uptake and water status of maize (*Zea mays* L.) grown in two types of coal mine spoils under drought stress. **Applied Soil Ecology**, v. 88, p. 41-49, 2015.

ZHU, X. Q.; WANG, C. Y.; CHEN, H.; TANG, M. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on photosynthesis, carbon content, and calorific value of black locust seedlings. **Photosynthetica**, v. 52, p. 247–252, 2014.

## CAPÍTULO II

### **MICORRIZAS ARBUSCULARES NA PRODUÇÃO DE MUDAS DE *Dipteryx alata* Vogel COM QUALIDADE E RESILIENTES AO DÉFICIT HÍDRICO**

## RESUMO

JESUS, Maílson Vieira. **Capítulo II:** Micorrizas arbusculares na produção de mudas de *Dipteryx alata* Vogel com qualidade e resilientes ao déficit hídrico. 2020. 109f. (Doutorado em Agronomia/Produção Vegetal) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados – MS.

A *Dipteryx alata* Vogel (Fabaceae) é uma espécie nativa do Cerrado, com ampla possibilidade de produtos, como madeireiros, alimentícios e medicinais, e usos em programas de reflorestamento e recuperação. Os efeitos do déficit hídrico, em plantas arbóreas são danosos, especialmente na fase de muda. Para a obtenção de mudas com vigor, é fundamental compreender as características ecofisiológicas da espécie e técnicas que auxiliam as plantas às condições de seca. Objetivamos, com este trabalho, avaliar o metabolismo fotossintético e crescimento inicial de mudas de *Dipteryx alata* Vogel cultivadas sob regimes hídricos (controle: mudas irrigadas diariamente, e déficit hídrico: com suspensão da irrigação); associados à inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs): MA- sem inoculação; MA+ inoculação com *Rhizogloium clarum*; e três épocas de avaliação: T0 – tempo zero; F0 – fotossíntese zero; REC – recuperação. O déficit hídrico prejudicou relações hídricas como, potencial hídrico e eficiência no uso da água (*EUA*), resultando em menor qualidade das mudas de *D. alata*. As mudas MA+ apresentaram maior conteúdo relativo de água (*CRA*), razão de área foliar:massa seca total, índice de clorofila e eficiência da carboxilação da Rubisco (*A/Ci*), os quais auxiliaram no metabolismo fotossintético. A inoculação com *R. clarum* aliviou o impacto do estresse, nas proporções de 6,72% para *EUA*, 23,51% para *A/Ci*, e de 24,45% para *CRA* ao final das avaliações. Portanto, a inoculação com FMAs é técnica promissora de manejo na produção de mudas de *D. alata*, que por sua vez, possibilitaram aumentos de qualidade e resiliência ao déficit hídrico.

**Palavras-chave:** baru; estresse hídrico; fungos micorrízicos arbusculares; *Rhizogloium clarum*.

## ABSTRACT

JESUS, Maílson Vieira. **Capítulo II:** Arbuscular mycorrhizal in the production of *Dipteryx alata* Vogel seedlings with quality and resilient to drought stress. 2020. 109f. (Doutorado em Agronomia/Produção Vegetal) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados – MS.

*Dipteryx alata* Vogel (Fabaceae) is a species native to the Cerrado, with a wide range of products, such as timber, food and medicinal products, and uses in reforestation and recovery programs. The effects of water deficit on tree plants are harmful, especially in the seedling phase. To obtain vigorous seedlings, it is essential to understand the species' ecophysiological characteristics and techniques that help plants with drought conditions. With this work, we aim to evaluate photosynthetic metabolism and initial growth of *Dipteryx alata* Vogel seedlings grown under water regimes (control: seedlings irrigated daily, and drought stress: with suspension of irrigation); associated with inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF): MA- without inoculation; AM+ inoculation with *Rhizoglyphus clarum*; and three evaluation periods: T0 - time zero; F0 - zero photosynthesis; REC - recovery. The drought stress impaired water relations such as water potential and water use efficiency (*WUE*), resulting in lower quality of *D. alata* seedlings. The AM+ seedlings showed higher relative water content (*RWC*), leaf area ratio: total dry mass, chlorophyll index and Rubisco carboxylation efficiency (*A/C<sub>i</sub>*), which helped with photosynthetic metabolism. The inoculation with *R. clarum* relieved the impact of stress, in the proportions of 6.72% for *WUE*, 23.51% for *A/C<sub>i</sub>*, and 24.45% for *RWC* at the end of the evaluations. Therefore, inoculation with AMF seems to be a promising management technique in the production of *D. alata* seedlings, which, in turn, enabled increases in quality and resilience to drought stress.

**Key-words:** baru; water stress; arbuscular mycorrhizal fungi; *Rhizoglyphus clarum*.

## 1 INTRODUÇÃO

A *Dipteryx alata* Vogel (Fabaceae), popularmente conhecida como baru, cumaru, cumbaru, é uma espécie arbórea, frutífera, nativa do Brasil, de ampla ocorrência no Cerrado, entretanto não endêmica (SANO et al., 2016), o que somado com a diversidade de usos, pode aumentar o interesse de seu cultivo também em outras regiões.

Da espécie são obtidos produtos madeireiros empregados na construção em geral, fabricação de móveis, carvão, entre outros (MARTINOTTO et al., 2012; PINHO et al., 2019). A polpa e amêndoa in natura ou processadas são ricas em amido, fibras, açúcares, macro e micronutrientes, proteínas, ácidos oleico, linoleico e fenóis, sendo utilizadas na alimentação humana e animal, com propriedades medicinais e cosméticos (LEMOS et al., 2012; SIQUEIRA et al., 2012; BONI et al., 2020). Além disso, pode ser indicada para programas de reflorestamento em áreas degradadas e paisagismo. Pott e Pott (2003) destacaram que *D. alata* dentre 116 espécies arbóreas nativas, é uma das mais promissoras para a utilização em sistemas agroflorestais.

Para o sucesso no cultivo da espécie, é fundamental que informações sobre suas características ecofisiológicas, estejam disponíveis para tomadas de decisões quanto ao manejo mais adequado. A depender das características climáticas do local de cultivo, as plantas de *D. alata* poderão ser submetidas ao déficit hídrico. Além disso, as mudanças edafoclimáticas globais que vêm ocorrendo, sejam elas naturais e/ou pela ação antrópica, têm prolongado períodos de seca em muitas regiões do mundo (MATOS et al., 2018).

Dentre os estresses abióticos, o déficit hídrico é considerado um dos principais fatores que afetam a produção agrícola em todo o mundo, uma vez que seus efeitos deletérios, perturbando a retenção e uso eficiente da água pelas plantas, desencadeará menor crescimento, produção e elevado índice de mortalidade das plantas (FATHI e TARI, 2016).

Os efeitos do déficit hídrico, em plantas arbóreas, são considerados danosos, especialmente na fase de muda, causando mortalidade das plantas em todo mundo (PARK WILLIAMS et al., 2012; MARTIN-StPAUL et al., 2017). Sendo assim, no processo de produção de *D. alata*, a obtenção de mudas com maior vigor é essencial, para proporcionar às plantas melhor desempenho em suportar essas condições adversas (PINHO et al., 2019). Para isso, técnicas que possam auxiliar as plantas em suas respostas às condições de seca, como a inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) vem sendo avaliada. Estes organismos formam simbiose – micorriza arbuscular (MA) –

com mais de 80% das plantas terrestres, há mais de 460 milhões de anos (BAREA et al., 2005). Das plantas hospedeiras, os FMAs obtêm produtos fotossintéticos e auxiliam na regulação benéfica de processos fisiológicos e bioquímicos nas plantas, como a absorção de água e nutrientes, trocas gasosas, atividades fotossintéticas e enzimáticas, dentre outros (AUGÉ et al., 2015; RUIZ-LOZANO et al., 2016; LIU et al., 2020). Além disso, sob déficit hídrico, as MAs permitem uma combinação de estratégias responsivas - escape e tolerância - das plantas (RUIZ-SÁNCHEZ et al., 2010).

A *D. alata* mostrou sensibilidade ao déficit hídrico em alguns estudos (MALTAROLO et al., 2016; MATOS et al., 2018). Contudo, concordamos com Matos et al. (2018) quanto ao fato de que as informações encontradas sobre *D. alata* e estresse hídrico, ainda não são suficientes ao ponto de garantir retorno econômico no campo, sendo demandados estudos cada vez mais específicos. Sendo assim, formulamos as hipóteses de que (1) as MAs poderiam otimizar a rustificação em *D. alata* ao déficit hídrico, pelo (2) aumento da qualidade das mudas por meio da melhoria na eficiência do uso da água. Para verificá-las, objetivamos, com este trabalho, avaliar o metabolismo fotossintético e crescimento inicial de mudas de *D. alata* sob déficit hídrico inoculadas com FMAs.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido na Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados - MS. O período experimental compreendeu agosto de 2018 a maio de 2019.

Frutos de *Dipteryx alata* foram coletados aleatoriamente de matrizes localizadas no Assentamento Dezesete de Abril, localizado em Casa Verde, Distrito de Nova Andradina, Mato Grosso do Sul, com uma área aproximada de 28,5 mil hectares, onde 4 mil hectares correspondem a área de Reserva Legal (RL). Entre as coordenadas 21°46'54.6"S, 53°13'23.6"W e (CD) 21°49'36.1"S, 53°13'07.1"W.

Os frutos foram despulpados e as sementes obtidas passaram por desinfestação de 1 minuto em álcool (70% v/v) e 5 minutos em hipoclorito de sódio (2,5% de cloro ativo). Posteriormente, foram semeadas em vasos de 7 litros de capacidade, contendo substrato constituído da mistura de terra + areia (2:1), esterilizado por autoclavagem à 120 °C, pressão de 1,05 kg cm<sup>-2</sup>, por 60 minutos. Foram semeadas três sementes por vaso, e 18 dias após a semeadura (DAS) foi feito desbaste a fim de padronizar uma muda por vaso.

Irrigações manuais diárias foram feitas, por vaso, mantendo-se 75% da capacidade de retenção de água no substrato (75%\_C.C.) (SOUZA et al., 2000). Os vasos foram mantidos em viveiro do tipo telado (22°11'53.7"S e 54°56'02"W, 461 m), com cobertura superior de polietileno de 150 µm transparente e 50% de sombreamento proveniente de telas Sombrite®.

O solo utilizado para compor o substrato foi Latossolo Vermelho distroférico, de textura argilosa (SANTOS et al., 2013). A análise dos atributos químicos do substrato utilizado apresentou pH (H<sub>2</sub>O) = 6,0; P (resina) = 7,5 mg dm<sup>-3</sup> e teor de matéria orgânica = 24,1 g dm<sup>-3</sup>. Os dados em cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, foram potássio (K) = 0,18; cálcio (Ca) = 5,7; magnésio (Mg) = 1,7; acidez potencial (H+Al) = 3,0; soma de bases trocáveis (SB) = 7,6; capacidade de troca catiônica (CTC) = 10,6, saturação por bases em porcentagem (V%) foi de 72,0%.

Aos 90 DAS, foi realizado o tratamento de inoculação com FMAs, sendo denominados MA – sem inoculação e MA+ inoculação com *Rhizoglyphus clarum*, (espécie escolhida após pré-testes de frequência e intensidade de colonização). A inoculação foi realizada abrindo-se duas covas pequenas, espaçadas de 3 cm da muda

cada, despejando-se 15 dm<sup>3</sup> do inóculo (substrato + esporos) cova<sup>-1</sup>. Os inóculos foram obtidos da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa – Milho e Sorgo.

Quando as mudas estavam com aproximadamente cinco meses de idade e apresentavam em média, 20 cm de comprimento de parte aérea, 5 folhas e área foliar de 143,00 cm<sup>2</sup>, foi realizada a primeira avaliação (T0 – tempo zero) e então, as mudas foram divididas em dois grupos quanto ao regime hídrico: controle (CTR) – mudas irrigadas diariamente (75%\_C.C.); déficit hídrico (DH) - com suspensão da irrigação.

Realizou-se o monitoramento da taxa fotossintética (*A*), utilizando analisador de gases por infravermelho (IRGA), marca ADC, modelo LCi PRO (Analytical Development Co. Ltda, Hoddesdon, UK), e quando detectados nas primeiras mudas de pelo menos um tratamento DH, valores de *A* próximos à zero, o qual ocorreu nas mudas DMA+ (média de 0,5 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), determinou-se a segunda época de avaliação (F0 – fotossíntese zero), momento em que realizou-se a retomada da irrigação (75%\_C.C.) por 100 dias, caracterizando a terceira época de avaliação (REC - recuperação), sendo as mudas CTR também avaliadas em todas as épocas.

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos ao acaso, em esquema fatorial 4 x 3, sendo 4 combinações entre regimes hídrico (controle e déficit) e inoculação (MA- e MA+) x 3 épocas de avaliação (T0, F0 e REC), portanto, um total de 12 tratamentos de três repetições cada, sendo um vaso contendo uma muda cada repetição, totalizando 36 vasos.

Os dados climáticos em cada época de avaliação, obtidos por leituras com aparelho termo-higrômetro são mostrados na Figura 1.

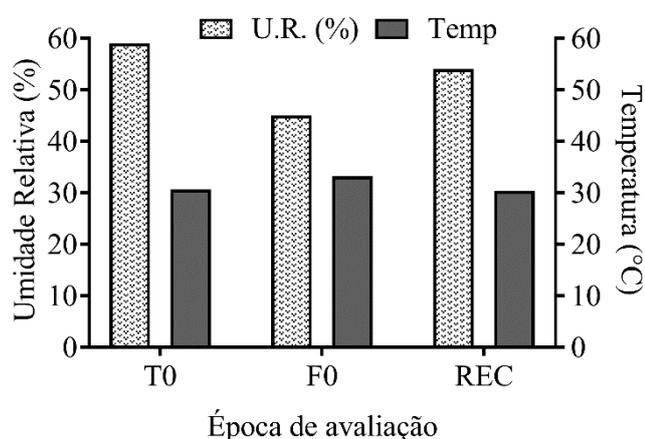


FIGURA 1. Umidades relativas (U.R.) e temperaturas (Temp) aferidas nas épocas de avaliação experimental, tempo zero (T0) – fevereiro/2019; fotossíntese zero (F0) – fevereiro/2019; e recuperação (REC) – maio/2019. Dourados/MS, UFGD, 2020.

As avaliações não-destrutivas foram realizadas entre 8 e 11 horas da manhã, sob fluxo fotossintético de fótons (*FFF*) maior que  $700 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , sendo em cada repetição dos tratamentos, realizadas três leituras, em folhas completamente expandidas e previamente marcadas, de modo que todas as medições fossem sempre realizadas nas mesmas folhas. A partir das trocas gasosas quantificadas utilizando o analisador de gases por infravermelho (IRGA), marca ADC, modelo LCI PRO (Analytical Development Co. Ltda, Hoddesdon, UK), foram calculadas as relações eficiência do uso da água (*EUA*) e eficiência instantânea de carboxilação da Rubisco (*A/C<sub>i</sub>*). O índice de clorofila (*SPAD*), foi quantificado com um medidor portátil de clorofila, Konica Minolta, modelo SPAD-502.

O potencial hídrico das folhas ( $\Psi_w$ ) foi obtido a partir de leituras realizadas em folhas individuais pertencentes ao terceiro par de folhas totalmente expandidas, do ápice para a base, entre 10 e 11 horas da manhã, usando uma câmara de pressão (Portable Plant Water Status Console - modelo 3115), imediatamente após a coleta das folhas. O conteúdo relativo de água (*CRA*) foi determinado de acordo com Bajji et al. (2001).

A qualidade das mudas foi avaliada como proposto por Dickson et al. (1960). Também foram calculadas as relações, razão raiz:parte aérea (*R:PA*), sendo os comprimentos das partes medidos com auxílio de régua graduada, e razão área foliar:massa seca total (*RAF*), com a área foliar mensurada no integrador de área foliar LI-COR® modelo LI 3100 e a massa seca total obtida de amostras secas em estufa com circulação forçada de ar, à temperatura de 65° C por 72 horas (HUNT, 1990).

Dados de todos os parâmetros avaliados foram submetidos à análise de variância e, quando significativas pelo teste F ( $P \leq 0,05$ ), as médias foram comparadas pelo teste Skott-Knott, utilizando-se o software estatístico AgroEstat (BARBOSA e MALDONADO, 2015).

Para avaliarmos o impacto da MA na resistência de *D. alata* ao déficit hídrico, foi calculado o Índice Relativo de Desvio de Déficit Hídrico (*RDAR*) (OULEDALI et al., 2018) segundo a equação:

$$RDAR (\%) = \left[ \frac{(ID_{MA-} - ID_{MA+})}{(ID_{MA-})} \right] \times 100$$

Na qual,  $ID_{MA-}$  é o impacto do déficit hídrico no parâmetro fisiológico medido em plantas não micorrízicas (MA-), calculado como a diferença máxima

encontrada entre as observações de DMA- e a referência (média das observações de CMA-) para cada parâmetro medido e época de avaliação.  $ID_{MA+}$  é o impacto do déficit hídrico no parâmetro fisiológico medido em plantas micorrízicas (MA+), calculado como a diferença máxima encontrada entre as observações de DMA+ e a referência (média das observações de CMA-) para cada parâmetro medido e época de avaliação. Calculamos o *RDAR* para os parâmetros fisiológicos: *CRA*, *EUA* e  $A/C_i$ , e para as épocas de avaliação: F0 e REC.

### 3 RESULTADOS

A interação entre os fatores analisados foi significativa para as características Índice de Qualidade de Dickson (*IQD*); razão de área foliar:massa seca total (*RAF*); potencial hídrico ( $\Psi_w$ ); conteúdo relativo de água (*CRA*); eficiência do uso da água (*EUA*); e eficiência de carboxilação da Rubisco (*A/C<sub>i</sub>*). O índice de clorofila (*SPAD*) e razão raiz:parte aérea (*R:PA*) somente foram afetados pelo efeito isolado de época de avaliação.

As diferenças na qualidade das mudas de *Dipteryx alata* somente foram observadas na avaliação final do experimento (REC), na qual, independente da inoculação com FMAs (MA+), as plantas que foram submetidas ao déficit hídrico exibiram os maiores valores de *IQD*. Entretanto, na mesma época, as plantas DMA+ apresentaram 30,60% (média e desvio padrão:  $1,44 \pm 0,04$ ) mais qualidade que as DMA- ( $1,00 \pm 0,16$ ), e 23,08% que as mudas CMA- ( $1,17 \pm 0,17$ ) (Figura 2).

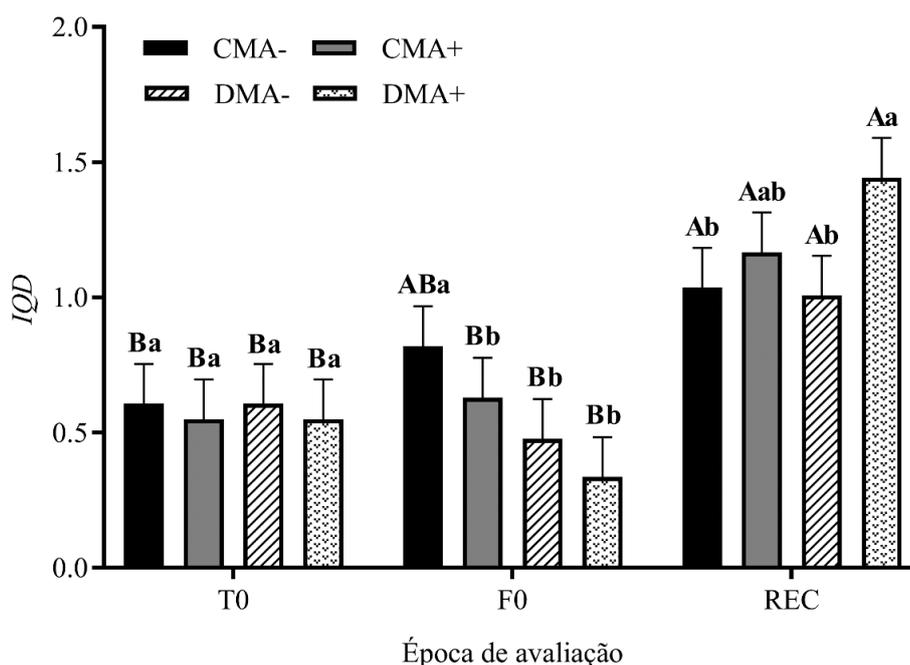


FIGURA 2. Índice de qualidade de Dickson - *IQD* em mudas de *Dipteryx alata* Vogel em função de regime hídrico (C: controle, D: déficit); épocas de avaliação (T0: tempo zero - 150 dias após semeadura; F0: fotossíntese zero - 7 dias da suspensão da irrigação, REC: recuperação - 100 dias após F0); e inoculação com FMAs: MA- (sem inoculação) e MA+ (com *Rhizoglosum clarum*). Médias de letras maiúsculas iguais não diferem entre si para época de avaliação em cada nível de tratamento pelo teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Letras minúsculas iguais não diferem entre si para tratamento em cada nível de época de avaliação pelo teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Dourados/MS, UFGD, 2020.

De maneira geral, houve queda nos valores da *RAF* ao longo das avaliações. Porém, a inoculação com *R. clarum* proporcionou aumento da *RAF*, no tratamento DMA+ em F0, na proporção de 64,94% ( $80,51 \pm 8,44 \text{ dm}^2 \text{ g}^{-1}$ ), em comparação à soma das médias ( $28,33 \pm 7,28 \text{ dm}^2 \text{ g}^{-1}$ ) dos demais tratamentos na mesma época. De maneira inversa, na avaliação da recuperação, foi o tratamento com menores valores de *RAF* ( $8,98 \pm 1,61 \text{ dm}^2 \text{ g}^{-1}$ ), sendo 57,98% menor que os demais tratamentos ( $21,18 \pm 1,47 \text{ dm}^2 \text{ g}^{-1}$ ) (Figura 3).

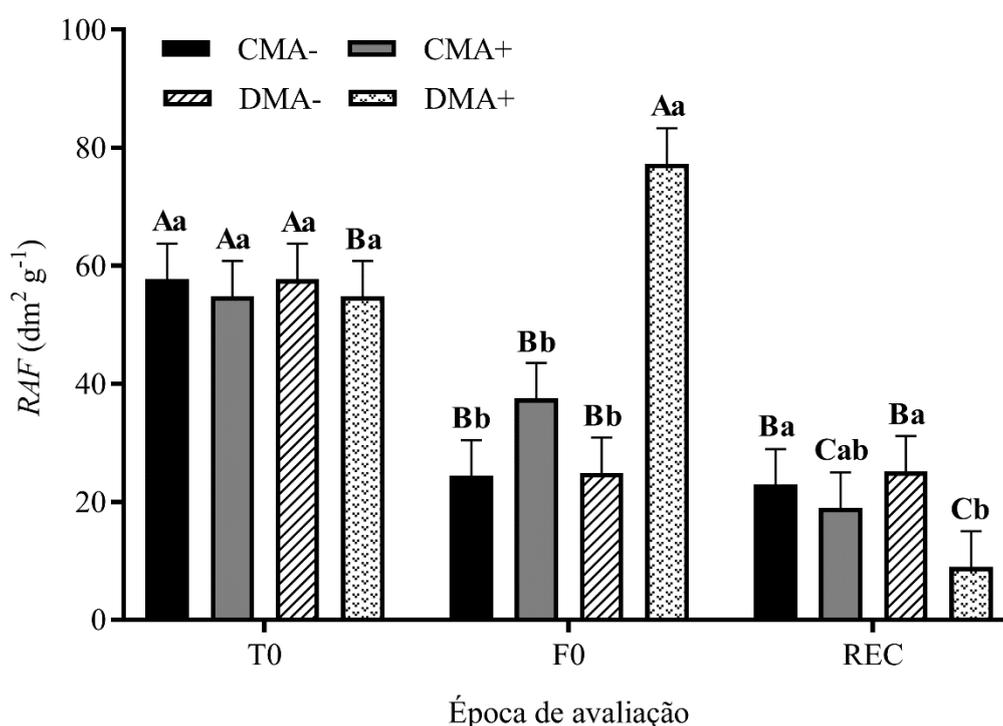


FIGURA 4. Razão de área foliar:massa seca total – *RAF* em mudas de *Dipteryx alata* Vogel em função de regime hídrico (C: controle, D: déficit); épocas de avaliação (T0: tempo zero - 150 dias após semeadura; F0: fotossíntese zero - 7 dias da suspensão da irrigação, REC: recuperação - 100 dias após F0); e inoculação com FMAs: MA- (sem inoculação) e MA+ (com *Rhizoglyphus clarum*). Médias de letras maiúsculas iguais não diferem entre si para época de avaliação em cada nível de tratamento pelo teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Letras minúsculas iguais não diferem entre si para tratamento em cada nível de época de avaliação pelo teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Dourados/MS, UFGD, 2020.

Entre a avaliação inicial T0 ( $2,61 \pm 0,40$ ) para a avaliação F0 ( $2,04 \pm 0,40$ ), houve queda de 28,43% das médias da razão *R:PA* nas mudas sob ambos regimes e inoculação. Posteriormente, ao serem avaliadas em REC ( $3,08 \pm 0,40$ ), apresentaram elevação de 33,77% nesse parâmetro (Figura 4).

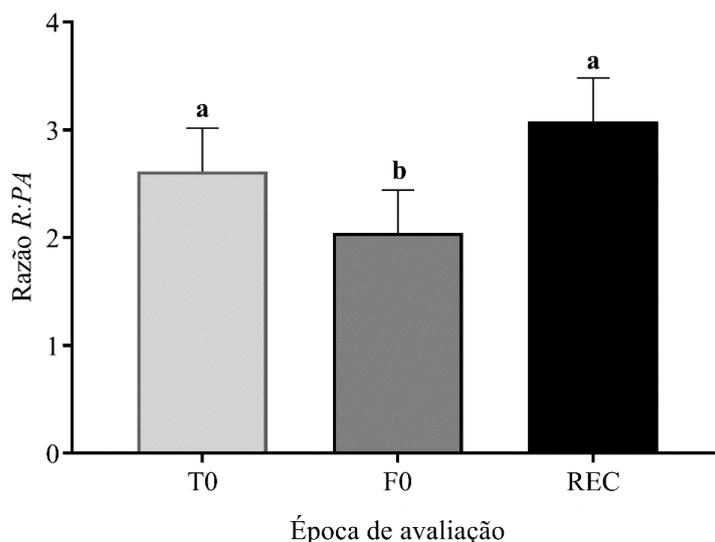


FIGURA 5. Razão raiz:parte aérea - *R:PA* em mudas de *Dipteryx alata* Vogel em função de épocas de avaliação – T0: tempo zero (150 dias após semeadura); F0: fotossíntese zero (7 dias da suspensão da irrigação), REC: recuperação (100 dias após F0). Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Dourados/MS, UFGD, 2020.

O índice *SPAD*, nas plantas de *D. alata*, foi afetado especialmente, pela inoculação com FMA. As diferenças entre plantas MA+ e MA- foram de 41,00% ( $33,46 \pm 7,86$  e  $23,73 \pm 4,86$ , respectivamente) (Figura 5).

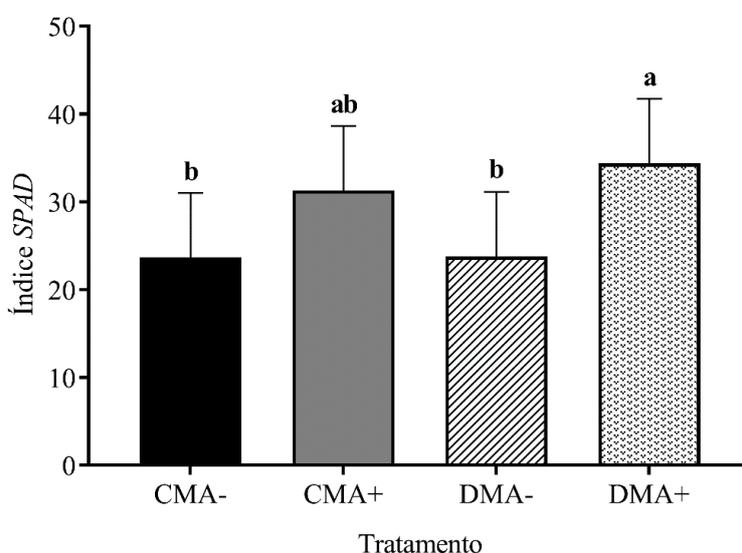


FIGURA 6. Índice de clorofila - *SPAD* em mudas de *Dipteryx alata* Vogel em função de regime hídrico – C: controle, D: déficit; e inoculação com FMAs: MA- (sem inoculação) e MA+ (*R. clarum*). Médias de letras iguais não diferem entre si pelo teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Dourados/MS, UFGD, 2020.

Os menores valores de  $\Psi_w$  foram observados em F0, nas mudas sob regime de déficit hídrico, e em REC, sob regime controle e sem inoculação, em que juntos apresentaram  $-1,03 \pm 0,02$  Mpa de média e desvio padrão, respectivamente. As demais médias das combinações de épocas e tratamentos foram semelhantes entre si e mais elevadas em 23,00% ( $-0,88 \pm 0,04$  MPa) (Figura 6).

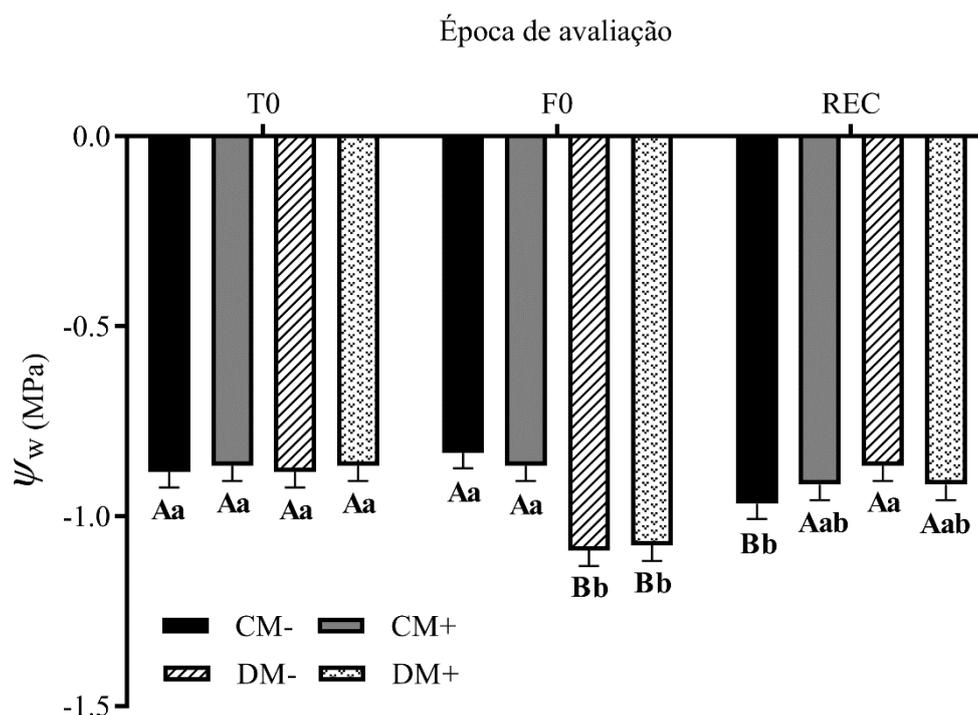


FIGURA 8. Potencial hídrico –  $\Psi_w$  em mudas de *Dipteryx alata* Vogel em função de regime hídrico (C: controle, D: déficit); épocas de avaliação (T0: tempo zero - 150 dias após semeadura; F0: fotossíntese zero - 7 dias da suspensão da irrigação, REC: recuperação - 100 dias após F0); e inoculação com FMAs: MA- (sem inoculação) e MA+ (com *Rhizoglyphus clarum*). Médias de letras maiúsculas iguais não diferem entre si para época de avaliação em cada nível de tratamento pelo teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Letras minúsculas iguais não diferem entre si para tratamento em cada nível de época de avaliação pelo teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Dourados/MS, UFGD, 2020.

O CRA das mudas MA+ foi afetado, negativamente, no início do experimento (T0). Entretanto, no decorrer das avaliações as médias das mudas, previamente estressadas, foram elevadas até REC, superando em 41,0% ( $79,28 \pm 4,50\%$ ) os valores das testemunhas na mesma época ( $46,24 \pm 3,03\%$ ), mas sem diferenças com as mudas DMA- (Figura 7).

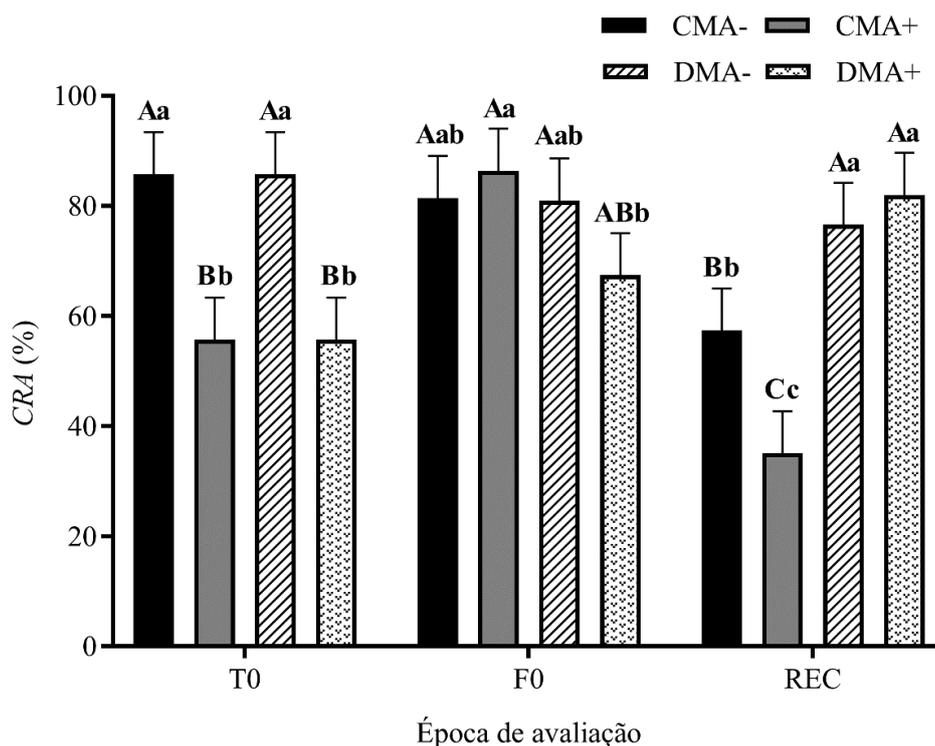


FIGURA 9. Conteúdo relativo de água – CRA em mudas de *Dipteryx alata* Vogel em função de regime hídrico (C: controle, D: déficit); épocas de avaliação (T0: tempo zero - 150 dias após sementeira; F0: fotossíntese zero - 7 dias da suspensão da irrigação, REC: recuperação - 100 dias após F0); e inoculação com FMAs: MA- (sem inoculação) e MA+ (com *Rhizoglyphus clarum*). Médias de letras maiúsculas iguais não diferem entre si para época de avaliação em cada nível de tratamento pelo teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Letras minúsculas iguais não diferem entre si para tratamento em cada nível de época de avaliação pelo teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Dourados/MS, UFGD, 2020.

As características *EUA* e *A/Ci* apresentaram padrão de resposta, do qual se nota em T0, médias menores nas mudas MA+. Em F0 observamos queda geral dos valores, com exceção para CMA+ quando comparado com T0, e ausência de diferença entre os tratamentos. Por fim em REC, as maiores médias foram observadas nos tratamentos contendo inoculação com *R. clarum* (Figuras 8A e B). A exceção ao padrão ocorreu em F0, onde as mudas sob o regime de déficit, independente da inoculação ou não com FMAs, diminuíram significativamente em 62% ( $1,08 \pm 0,15$ ) os valores de *EUA*, em comparação com as plantas controle no mesmo período ( $1,75 \pm 0,17$ ) (Figura 8A).

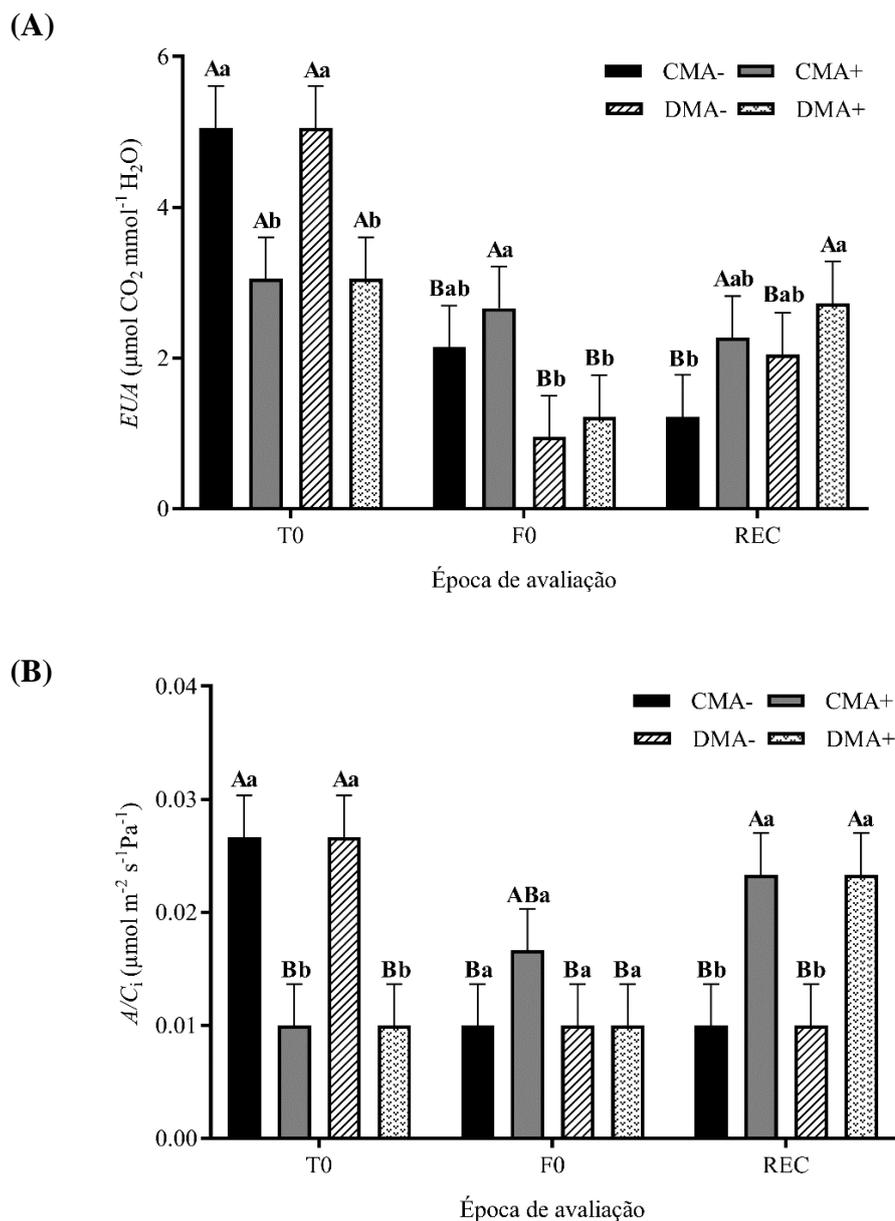


FIGURA 10. Eficiência no uso da água –  $EUA$  (A) e eficiência instantânea de carboxilação da Rubisco –  $A/C_i$  (B) em mudas de *Dipteryx alata* Vogel em função de regime hídrico (C: controle, D: déficit); épocas de avaliação (T0: tempo zero - 150 dias após semeadura; F0: fotossíntese zero - 7 dias da suspensão da irrigação, REC: recuperação - 100 dias após F0); e inoculação com FMAs: MA- (sem inoculação) e MA+ (com *Rhizoglyphus clarum*). Médias de letras maiúsculas iguais não diferem entre si para época de avaliação em cada nível de tratamento pelo teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Letras minúsculas iguais não diferem entre si para tratamento em cada nível de época de avaliação pelo teste Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Dourados/MS, UFGD, 2020.

As Figuras 9A, B e C apresentam o *RDAR* nas plantas de *D. alata*. Nos gráficos, a área hachurada pontilhada representa a parte não aliviada do impacto da seca no parâmetro em análise e a hachura quadriculada representa o efeito da inoculação com *R. clarum* no alívio da condição estressante imposta. De maneira geral, o *RDAR* foi mais elevado em REC, sendo que as mudas exibiram sua dependência micorrízica no alívio da condição de escassez de água, principalmente, por meio das variáveis  $A/C_i$  e *CRA* (Figuras 9A e C).

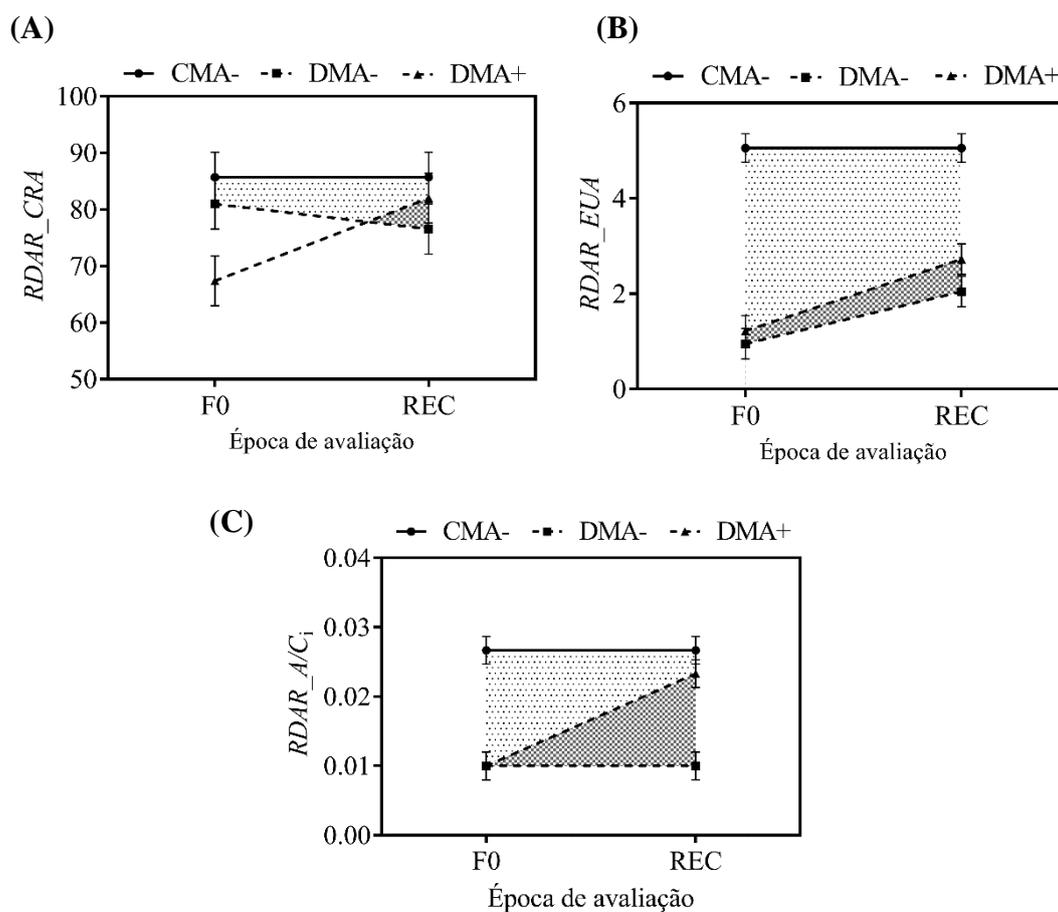


FIGURA 11. Índice Relativo de Desvio de Déficit Hídrico – *RDAR* calculado para: conteúdo relativo de água (*CRA*) (A); eficiência no uso da água (*EUA*) (B); e eficiência instantânea de carboxilação da Rubisco ( $A/C_i$ ) (C), em mudas de em mudas de *Dipteryx alata* em função de regime hídrico (C: controle, D: déficit); épocas de avaliação (F0: fotossíntese zero - 7 dias da suspensão da irrigação, REC: recuperação - 100 dias após F0); e inoculação com FMAs: MA- (sem inoculação) e MA+ (*R. clarum*). A área pontilhada representa a parte não aliviada do impacto do déficit hídrico no parâmetro estudado, mas a área grelhada representa a parte aliviada realizada pela inoculação de FMA. Dourados/MS, UFGD, 2020.

## 4 DISCUSSÃO

A escassez de água que submetemos as mudas de *D. alata* foi suficiente para ocasionar efeitos deletérios ao equilíbrio no acúmulo e distribuição de biomassa (*IQD*). Entretanto, após o retorno no fornecimento de água (*REC*), a espécie mostrou resiliência, aumentando os valores de *IQD*, independentemente dos tratamentos. Todavia, a simbiose com *R. clarum* evidenciou ainda mais esta resposta, demonstrando seu efeito benéfico na tolerância das plantas à condição estressante por meio do incremento no vigor das mudas.

O aumento no crescimento das plantas pela influência das MAs, classicamente, é explicado pela ação dos FMAs na captação melhorada de nutrientes, seja pela redução na distância de interceptação das raízes com os nutrientes; por meio do aumento da taxa de absorção ou por modificações químicas na disponibilidade dos nutrientes para as plantas (POWELL e BAGYARAJ, 1984), respostas estas, também descritas por Karthikeyan et al. (2019), com mudas de sândalo vermelho (*Pterocarpus santalinus* L.), que assim como *D. alata* pertence às Fabaceas.

A extensão alcançada pelas hifas extraradiciais para além da zona de depleção da rizosfera das plantas torna, portanto, mais eficiente a absorção de água e minerais sob condições de deficiência hídrica (BERRUTI et al., 2014), como observado por Liu et al. (2020), em folhas de mudas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L. cv. Yuyan No. 6) com concentrações de N, P, K aumentadas.

É possível dizer que essa qualidade de mudas MA+, observada em nosso trabalho, foi proveniente do incremento na parte aérea das plantas, já que a razão raiz:parte aérea (*R:PA*) não foi influenciada pelos tratamentos. Amanifar et al. (2020) também averiguaram na análise de *R:PA* em plantas micorrizadas de *Valeriana officinalis* L., sob estresse salino, maior crescimento da parte aérea que da raiz. Sheng et al. (2009), atribuíram este comportamento à ação das hifas fúngicas estendidas, reduzindo a dependência das plantas de suas raízes.

Além disso, sabe-se que raízes micorrizadas podem gastar mais energia, porém devido à característica simbiótica da relação, este gasto pode ser compensado com aumento da fotossíntese e outros parâmetros relacionados à parte aérea. De acordo com Romero-Munar et al. (2017), a maior biomassa total obtida nas plantas MA+ de *Arundo donax* L., com maior biomassa da parte aérea e sem diferenças para a raiz, teve como um dos fatores responsáveis a maior área foliar. Neste sentido, podemos justificar o aumento discrepante da razão área foliar:massa seca total (*RAF*), em F0, nas mudas DMA+.

Demir (2004) verificou que a maior *RAF* em pimenta (*Capsicum annuum* L. cv Cetinel-150) inoculada com FMA, foi devido ao aumento do teor de P nas plantas. Amanullah et al. (2007) definiram *RAF* como uma medida da maquinaria fotossintética por unidade de biomassa vegetal. Sendo assim, com o aumento desse parâmetro, se tem influência positiva na assimilação de CO<sub>2</sub>, bem como sua eficiência perante aos recursos como, a água. Portanto, a *RAF* pode ser um parâmetro fundamental na obtenção de informações ecofisiológicas das espécies, como ganho e distribuição de carbono, produção, respiração, auxiliando na determinação do comportamento fotossintético e hidráulico em plantas (WERADUWAGE et al., 2015; PEREIRA et al., 2019).

Curiosamente, identificamos a menor *RAF*, nas mudas DMA+, em REC. Barros et al. (2018) e Quiroga et al. (2019), com espécies lenhosas sempre verdes e milho, respectivamente, observaram resultados semelhantes. Este comportamento estaria ligado à eficiência aumentada nas plantas da percepção de sinal ambiental, que possibilitou controle na perda de água, mantendo assim, algum fluxo de água e nutrientes mesmo na seca (ERICE et al., 2010; BARROS et al. 2018) ou, acumulando proteínas nas folhas e aumentando a espessura das mesmas, resultante da ação dos FMAs na anatomia foliar e morfologia das plantas.

Portanto, acreditamos que em nosso estudo, a simbiose das mudas de *D. alata* com *R. clarum* tenha proporcionado indução de repostas sistêmicas ao déficit hídrico, por meio de produção de sinal de estresse (BÁRZANA et al., 2015), com combinação de aumento de crescimento e qualidade das plantas com menor *RAF* ao final do experimento, resultando em plantas mais eficientes para com a luz, água e nutrientes, e por fim, mais tolerantes ao déficit hídrico.

Ainda neste contexto, o maior índice *SPAD* que encontramos foi, especialmente, nas mudas contendo micorrizas arbusculares sob déficit. O que se tem observado é que a melhoria no status de clorofila é consequência das maiores concentrações de N, P e Mg nas folhas causadas pelos FMAs (ZHU et al., 2014).

De acordo com Metwally et al. (2019) o conteúdo de clorofila é essencial para avaliar a eficiência fotossintética das plantas sob estresse ambiental. Plantas de mamona (*Ricinus communis*), submetidas ao déficit hídrico e estresse salino, apresentaram alto teor de clorofila quando inoculadas com FMAs (ZHANG et al., 2018), também o trigo (*Triticum aestivum*) sob restrição hídrica (MATHUR et al., 2019). Os autores de ambos os trabalhos relacionaram estes resultados com o aumento da fotossíntese foliar.

Contudo, vimos até aqui, benefícios diretos, indiretos e prováveis da simbiose com FMAs na qualidade e tolerância das mudas de *D. alata* sob escassez de água. Entretanto, de fato houve déficit hídrico? A MA tornou as plantas mais eficientes em suas atividades fisiológicas como mencionado?

Com os menores valores de potencial hídrico em F0, podemos constatar que a condição imposta de seca do substrato causou impacto nas mudas de *D. alata*, e como este cenário foi independente da inoculação ou não com *R. clarum*, então essa sensibilidade parece estar relacionada com características inerentes à espécie. Além disso, vale ressaltar que as condições climáticas naturais, durante o período experimental, podem ter influenciado nas repostas das plantas. Justamente, no período de avaliação do estresse em F0, houve diminuição de 14% na umidade relativa do ar e aumento de 3,2 °C na temperatura, comparado à época T0 (Figura 1). Isso pode ser notado nos valores menores de alguns parâmetros avaliados, mesmo nos tratamentos controle com irrigação diária.

Por outro lado, ressalta-se que mesmo com a presença da condição estressante, o *CRA* foi pouco alterado. Assim, ao final do experimento, as plantas que passaram pelo déficit hídrico, exibiram maior *CRA* que as sempre irrigadas, demonstrando resiliência da espécie, o que pode ser interessante na aquisição de memória responsiva para episódios subsequentes de estresse. O *RDAR\_CRA*, mostrou efeito negativo das MAs, em F0, mas positivo em REC, porém sem alcançar diferenças com as plantas MA-. Contudo, o maior *IQD* somente ocorreu nas plantas MA+. Segundo Moucheshi et al. (2012), a combinação entre aumento no acúmulo de biomassa com retenção de *CRA* é devido a absorção superior de água pela simbiose micorrízica.

Mesmo com o ganho de *IQD*, após a retomada no fornecimento de água, a *EUA* nas mudas MA- não acompanhou essa crescente, podendo não ter suprido as necessidades de água das plantas, indicando ocorrência do estresse. Por outro lado, as mudas MA+, registraram maior *EUA*, aliviando o impacto do estresse (*RDAR\_EUA*). Bakr et al. (2018) também constataram semelhante episódio com tomateiro.

Já a combinação dos resultados de maior *EUA* e manutenção de *CRA*, de acordo com Zhu et al. (2012), facilita o movimento da água das plantas para as folhas, o que acarreta em maior equilíbrio no fluxo de água. Mais especificamente, as micorrizas podem melhorar as propriedades hidráulicas das plantas pelo alcance das hifas extraradiciais à reservatórios de água inacessíveis pelas raízes (AUGÉ et al., 2015); por processos compensatórios e alternâncias entre o apoplasto e simplasto, com participação

das células hifais, (BÁRZANA et al., 2012); e ainda, por expressão de genes de regulação das aquaporinas, a fim de conservar ou aumentar a água celular, facilitando a difusão através das membranas celulares (BÁRZANA et al., 2014; XU et al., 2018).

Segundo Elhindi et al. (2017), na verdade essas respostas combinam-se para melhorar a *EUA*, por consequência, as trocas gasosas nas plantas micorrízicas. Isto pode ser evidenciado pelo aumento na  $A/C_i$ , especialmente ocorrido em REC, nas plantas DMA+, e mostrado em  $RDAR\_A/C_i$ , como o parâmetro com maior participação das MAs no alívio do impacto pela seca imposta ao longo das avaliações. De fato, o aumento de  $A/C_i$  foi relacionado à maior capacidade na mobilização de água nas raízes micorrizadas para manutenção da transpiração, além de maior atividade da Rubisco e outras enzimas-chave do ciclo de Calvin dada pelos FMAs (VALENTINE et al., 2006; CHEN et al., 2017; QUIROGA et al., 2019).

Zhu et al. (2017) sugeriram que as mudas micorrizadas de falsa-acácia (Fabaceae: *Robinia pseudoacacia* L.) com maior conteúdo de clorofila, apresentaram maiores taxas de assimilação de CO<sub>2</sub>,  $A/C_i$  e área foliar, o que corrobora com nossos resultados de *SPAD* e *RAF*. Porcel et al. (2015) em seu trabalho com arroz (*Oryza sativa* L. cv. Puntal), verificaram que o aumento de  $A/C_i$ , dada pela presença de MAs, desencadeou acúmulo de biomassa, como também encontrado em nosso estudo.

De acordo com Ouledali et al. (2018) o *RDAR* representa a porcentagem de alívio do déficit hídrico, no parâmetro fisiológico estudado, obtida pela inoculação com FMAs. Como verificamos, os alívios de 6,72% para *EUA*, 23,51% para  $A/C_i$ , e de 24,45% para *CRA*, foram alcançados ao longo do período experimental, sendo que sua maior expressão ocorreu aos 100 dias após condição de uma seca, que pode ser considerada de moderada à severa, já que as médias do  $\Psi_w$  aproximaram-se do limiar geral de murcha permanente de -1,50 MPa (SLATYER, 1967).

Este fato, somado às demais respostas que observamos neste trabalho, evidencia a ocorrência do estresse por déficit hídrico e que a inoculação com FMAs parece ser técnica promissora de manejo na produção de mudas de *D. alata*, que por sua vez, possivelmente apresentarão aumentos de qualidade, resiliência e memória responsiva às condições adversas de seca, sob as quais, poderão ser submetidas durante seu desenvolvimento no campo.

## 5 CONCLUSÃO

A simbiose com o fungo micorrizico arbuscular *Rhizogloму clarun* aumentou a tolerância ao déficit hídrico e qualidade das mudas de *D. alata*, sendo promissora técnica de manejo na produção de mudas dessa espécie.

O déficit hídrico prejudicou os processos metabólicos e o crescimento de mudas de *D. alata*. A espécie apresentou como resposta de tolerância ao déficit hídrico a manutenção do conteúdo de água.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMANIFAR, S.; TOGHRANEGAR, Z. The efficiency of arbuscular mycorrhiza for improving tolerance of *Valeriana officinalis* L. and enhancing valerenic acid accumulation under salinity stress. **Industrial Crops and Products**, v. 147, p. 112234, 2020.

AMANULLAH, M. J. H.; NAWAB, K.; ASAD, A. Response of specific leaf area (SLA), leaf área index (LAI) and leaf area ratio (LAR) of maize (*Zea mays* L.) to plant density, rate and timing of nitrogen application. **World Applied Sciences Journal**, v. 2, n. 3 235–243, 2007.

AUGÉ, R. M.; TOLER, H. D.; SAXTON, A. M. Arbuscular mycorrhizal symbiosis alters stomatal conductance of host plants more under drought than under amply watered conditions: a meta-analysis. **Mycorrhiza**, v. 25, p. 13-24, 2015.

BAJJI, M.; LUTTS, S.; KINET, J-M. Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. **Plant Science**, v. 160, n. 4, p. 669-681, 2001.

BAKR, J.; PÉK, Z.; HELYES, L.; POSTA, K. mycorrhizal inoculation alleviates water deficit impact on field-grown processing tomato. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 27, n. 5, 2018.

BARBOSA, J. C.; MALDONADO JUNIOR, W. **AgroEstat: sistema para análises estatísticas de ensaios agronômicos**. Jaboticabal: FCAV/UNESP, 2015. 396p.

BAREA, J. M.; POZO, M. J.; AZCÓN, R.; AZCÓN-AGUILAR, C. Microbial co-operation in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, n. 417, p. 1761-1768, 2005.

BARROS, V.; FROSI, G.; SANTOS, M.; RAMOS, D. G. FALCÃO, H. M.; SANTOS, M. G. Arbuscular mycorrhizal fungi improve photosynthetic energy use efficiency and decrease foliar construction cost under recurrent water deficit in woody evergreen species. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 127, p. 469-477, 2018.

BÁRZANA G.; AROCA R.; PAZ J.A.; CHAUMONT F.; MARTINEZ-BALLESTA M.C.; CARVAJAL M.; RUIZ-LOZANO J.M. Arbuscular mycorrhizal symbiosis increases relative apoplastic water flow in roots of the host plant under both well-watered and drought stress conditions. **Annals of Botany**, v. 109, n. 5, p. 1009, 2012.

BÁRZANA, G.; AROCA, R.; BIENERT, G. P.; CHAUMONT, F.; RUIZ-LOZANO, J. M. New insights into the regulation of aquaporins by the arbuscular mycorrhizal symbiosis in maize plants under drought stress and possible implications for plant performance. **MPMI**, v. 27, n. 4, p. 349–63.

BERRUTI, A.; BORRIELLO, R.; ORGIAZZI, A.; BARBERA, A. C.; LUMINI, E.; BIANCIOTTO, V. Arbuscular mycorrhizal fungi and their value for ecosystem

management. In: OSCAR, G. (Ed.). **The dynamic balance of the planet**. London: Intech Open. 2014. pp 159–191.

BONI, T. S.; MALTONI, K. L.; MIZOBATA, K. K. G. S da. *Dipteryx alata* seedlings nutritional status in a recovery area in the Brazilian Savannah. **Floresta e Ambiente**, v. 27, n. 2, 2020.

CHEN, S.; ZHAO, H.; ZOU, C.; LI, Y.; CHEN, Y.; WANG, Z.; LIU, A.; ZHAO, P.; WANG, M.; AHAMMED, G. Combined inoculation with multiple arbuscular mycorrhizal fungi improves growth, nutrient uptake and photosynthesis in cucumber seedlings. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 2516, 2017.

DEMIR, S. Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. **Turkish Journal of Biology**, v. 28, p. 85-90, 2004.

DICKSON, A.; LEAF, A. L.; HOSNER, J. F. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. **Forestry Chronicle**, v. 36, n. 1, p. 10-13, 1960.

ELHINDI, K. M.; EL-DIN, A. S.; ELGORBAN, A. M. The impact of arbuscular mycorrhizal fungi in mitigating salt-induced adverse effects in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 24, n. 1, p. 170-179, 2017.

ERICE, G.; LOUAHLIA, S.; IRIGOYEN, J. J.; SANCHEZ-DIAZ, M.; AVICE, J. C. Biomass partitioning, morphology and water status of four alfalfa genotypes submitted to progressive drought and subsequent recovery. **Journal of Plant Physiology**, v. 167, n. 2, 2010.

FATHI, A.; TARI, D. B. Effect of drought stress and its mechanism in plants. **International Journal of Life Sciences**, v. 10, n. 1, p. 1-6, 2016.

HUNT, R. **Basic growth analysis**: Plant growth analysis for beginners. London: Unwin Hyman. 1990. 112p.

KARTHIKEYAN, A.; ARUNPRASAD, T. Growth response of *Pterocarpus santalinus* seedlings to native microbial symbionts (arbuscular mycorrhizal fungi and *Rhizobium aegyptiacum*) under nursery conditions. **Journal of Forestry Research**, p. 1-7, 2019.

LEMOS, M. R. B.; SIQUEIRA, E. M. A.; ARRUDA, S. F.; ZAMBIAZI, R. C. The effect of roasting on the phenolic compounds and antioxidant potential of baru nuts (*Dipteryx alata* Vog.). **Food Research International**, v. 48, n. 2, p. 592-597, 2012.

LIU, L.; LI, D.; MA, Y.; SHEN, H.; ZHAO, S.; WANG, Z. Combined application of arbuscular mycorrhizal fungi and exogenous melatonin alleviates drought stress and improves plant growth in tobacco seedlings. **Journal of Plant Growth Regulation**, p. 1-14, 2020.

MALTAROLO, B. M.; LIMA, E. G. S. da; NASCIMENTO, V. R. do; CARDOSO, K. P. S.; BRITO, A. E. A.; OLIVEIRA, T. B. de; NOGUEIRA, G. A. S.; SILVA, K. R. S.; ATAÍDE, W. L. S.; NETO, C. F. O.; JUNIOR, W. V. A.; FILHO, B. G. S. Chlorophyll, nitrogen and antioxidant activities in cumaru (*Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd)

(Fabaceae) in two water regimes. **African Journal of Biotechnology**, v. 15, n. 44, p. 2480-2489, 2016.

MARTINOTTO, F.; MARTINOTTO, C.; AZEVEDO, R. A.; ALBUQUERQUE, M. C. F. Survival and initial growth of tree species native to the Cerrado intercropped with cassava. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 1, p. 22-29, 2012.

MARTIN-St PAUL, N.; DELZON, S.; COCHARD, H. Plant resistance to drought depends on timely stomatal closure. **Ecology Letters**, v. 20, n. 11, p. 1437-1440, 2017.

MATHUR, S.; TOMAR, R. S.; JAJOO, A. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) protects photosynthetic apparatus of wheat under drought stress. **Photosynthesis research**, v. 139, n. 1-3, p. 227-238, 2019.

MATOS, F. S.; FREITAS, I. A. S.; SANTOS, L. V. B dos.; VENÂNCIO, D. G.; SILVEIRA, P. S. da. Initial growth of *Dipteryx alata* plants under water deficit. **Revista Árvore**, v. 42, n. 1, p. 1-8, 2018.

METWALLY, A.; AZOOZ, M.; NAFADY, N.; EL-ENANY, A. Arbuscular mycorrhizal symbiosis alleviates drought stress imposed on wheat plants (*Triticum aestivum* L.). **Applied Ecology And Environmental Research**, v. 17, n. 6, 2019.

MOUCHESHI, A.; HEIDARI, B.; ASSAD, M. T. Alleviation of drought stress effects on wheat using arbuscular mycorrhizal symbiosis. **International Journal of AgriScience**, v. 2, n. 1, p. 35-47, 2012.

OULEDALI, S.; ENNAJEH, M.; ZRIG, A.; GIANINAZZI, S.; KHEMIRA, H. Estimating the contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to drought tolerance of potted olive trees (*Olea europaea*). **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 40, p. 81, 2018.

PARK WILLIAMS, A.; ALLEN, C. D.; MACALADY, A. K.; GRIFFIN, D.; WOODHOUSE, C. A.; MEKO, D. M.; SWETNAM, T. W.; RAUSCHER, S. A.; SEAGER, R.; GRISSINO-MAYER, H. D.; DEAN, J. S.; COOK, E. R.; GANGODAGAMAGE, C.; CAI, M.; McDOWELL, N. G. Temperature as a potent driver of regional forest drought stress and tree mortality. **Nature Climate Change**, v. 3, p. 292-297, 2012.

PEREIRA, S.; MUCHA, Â.; GONÇALVES, B.; BACELAR, E.; LÁTR, A.; FERREIRA, H.; OLIVEIRA, I.; ROSA, E.; MARQUES, G. Improvement of some growth and yield parameters of faba bean (*Vicia faba*) by inoculation with *Rhizobium laguerreae* and arbuscular mycorrhizal fungi. **Crop and Pasture Science**, v. 70, n. 7, p. 595-605, 2019.

PINHO, E. K. C.; COSTA, A. C.; VILAR, C. C.; SOUZA, M. E de.; SILVA, A. B. V.; OLIVEIRA, C. H. G de. Phosphate and nitrogen fertilization in the production of barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) seedlings. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 41, n. 6, p. 1-11, 2019.

PORCEL, R.; REDONDO-GÓMEZ, S.; MATEIOS-NARANJO, E.; AROCA, R.; GARCIA, R.; RUIZ-LOZANO, J. M. Arbuscular mycorrhizal symbiosis ameliorates the

optimum quantum yield of photosystem II and reduces non-photochemical quenching in rice plants subjected to salt stress. **Journal of Plant Physiology**, v. 185, p. 75-83, 2015.

POTT, A.; POTT, V. J. **Plantas nativas potenciais para sistemas agroflorestais em Mato Grosso do Sul**. In: Seminário Sistemas Agroflorestais E Desenvolvimento Sustentável, 2003, Campo Grande, MS. [Anais...]. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte: Finep, 2003. 1 CD-ROM.

POWELL, L. I.; BAGYARAJ, D. J. **VA Mycorrhiza**. 1 ed. London: CRC Press, 1984. 241p.

QUIROGA, G.; ERICE, G.; DING, L.; CHAUMONT, F.; AROCA, R.; RUIZ-LOZANO, J. M. The arbuscular mycorrhizal symbiosis regulates aquaporins activity and improves root cell water permeability in maize plants subjected to water stress. **Plant, Cell & Environment**, v. 42, n. 7, p. 2274-2290, 2019.

ROMERO-MUNAR, A.; DEL-SAZ, N. F.; RIBAS-CARBÓ, M.; FLEXAS, J.; BARAZA, E.; FLOREZ-SARASA, I.; FERNIE, A. R.; GULÍAS, J. Arbuscular mycorrhizal symbiosis with *Arundo donax* decreases root respiration and increases both photosynthesis and plant biomass accumulation. **Plant, Cell & Environment**, v. 40, n. 7, p. 1115-1126, 2017.

RUIZ-LOZANO, J. M.; AROCA, R.; ZAMARREÑO, Á. M.; MOLINA, S.; ANDREO-JIMÉNEZ, B.; PORCEL, R.; GARCÍA-MINA, J. M.; RUYTER-SPIRA, C.; LÓPEZ-RÁEZ, J. Arbuscular mycorrhizal symbiosis induces strigolactone biosynthesis under drought and improves drought tolerance in lettuce and tomato. **Plant, Cell & Environment**, v. 39, n. 2, p. 441-452, 2016.

RUIZ-SÁNCHEZ, M.; AROCA, R.; MUÑOZ, Y.; POLÓN, R.; RUIZ-LOZANO, J. M. The arbuscular mycorrhizal symbiosis enhances the photosynthetic efficiency and the antioxidative response of rice plants subjected to drought stress. **Journal of Plant Physiology**, v. 167, n. 11, p. 862-869, 2010.

SANO, S. M.; BRITO, M. A.; RIBEIRO, J. F. *Dipteryx alata*: Baru. In: VIEIRA, R. F.; CAMILLO, J.; CORADIN, L. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: Região Centro-Oeste**. Brasília, DF: MMA. 2016. pp. 203-215.

SHENG, M.; TANG, M.; CHEN, H.; YANG, B.; ZHANG, F.; HUANG, Y. Influence of arbuscular mycorrhizae on the root system of maize plants under salt stress. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 55, n.7, p. 879-886, 2009.

SIQUEIRA E. M.A.; MARIN, A. M. F.; CUNHA, M. S. B.; FUSTINONI, A. M. SANT'ANA, L. P.; ARRUDA, S. F. Consumption of baru seeds [*Dipteryx alata* Vog.], a Brazilian savanna nut, prevents iron-induced oxidative stress in rats. **Food Research International**, v. 45, n. 1, p. 427-433, 2012.

SLATYER, R. O. **Plant-water relationships**. London: Academic Press. 1967. 366p.

SOUZA, C. C.; OLIVEIRA, F. A.; SILVA, I. F.; AMORIM NETO, M. S. Evaluation of methods of available water determination and irrigation management in "terra roxa" under cotton crop. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, n. 3, p. 338-342, 2000.

VALENTINE, A. J.; MORTIMER, P. E.; LINTNAAR, M.; BORGIO, R. Drought responses of arbuscular mycorrhizal grapevines. **Symbiosis**, 41, n. 3, p. 127–133, 2006.  
WERADUWAGE, S.; CHEN, J.; ANOZIE, F. C.; MORALES, A.; WEISE, S. E.; SHARKEY, T. D. The relationship between leaf area growth and biomass accumulation in *Arabidopsis thaliana*. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 167, 2015.

XU, L.; LI, T.; WU, Z.; FENG, H.; YU, M.; ZHANG, X.; CHEN, B. Arbuscular mycorrhiza enhances drought tolerance of tomato plants by regulating the 14-3-3 genes in the ABA signaling pathway. **Applied Soil Ecology**, v. 125, p. 213-221, 2018.

ZHANG, T.; HU, Y.; ZHANG, K.; TIAN, C.; GUO, J. Arbuscular mycorrhizal fungi improve plant growth of *Ricinus communis* by altering photosynthetic properties and increasing pigments under drought and salt stress. **Industrial Crops and Products**, v. 117, p. 13-19, 2018.

ZHU, X. Q.; WANG, C. Y.; CHEN, H.; TANG, M. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on photosynthesis, carbon content, and calorific value of black locust seedlings. **Photosynthetica**, v. 52, p. 247–252, 2014.

ZHU, X. Q.; TANG, M.; ZHANG, H. Q. Arbuscular mycorrhizal fungi enhanced the growth, photosynthesis, and calorific value of black locust under salt stress. **Photosynthetica**, v. 55, n. 2, p. 378-385, 2017.

ZHU, X.; SONG, F.; LIU, S. Q. Arbuscular mycorrhizae improve photosynthesis and water status of *Zea mays* L. under drought stress. **Plant Soil and Environment**, v. 58, n. 4, p. 186-191, 2012.

## CONCLUSÕES GERAIS

Os efeitos do déficit hídrico e as respostas das plantas são dependentes de inúmeros fatores como, intensidade e duração do estresse e características intrínsecas à espécie vegetal. Neste sentido, a condição de escassez de água que impusemos às mudas de *Dipteryx alata* Vogel, foi suficiente para ocasionar déficit, com potencial hídrico reduzido, desencadeando perda de qualidade das mudas. Todavia, as mudas de *D. alata* apresentam resiliência ao déficit hídrico, principalmente, exibindo manutenção do conteúdo relativo de água.

O ácido abscísico exógeno aplicado no substrato, apresenta efeito direto e benéfico na colonização dos FMAs, mas não influencia suficientemente para causar efeito indireto na tolerância das mudas de *D. alata* ao déficit hídrico.

Por outro lado, a inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), especialmente com *Rhizoglyphus clarum*, amplificou o leque de respostas, auxiliando as mudas de *D. alata* a diminuir a regulação das relações hídricas e o metabolismo fotossintético, além de proporcionar crescimento adicional. Com isso, tornaram as mudas dessa espécie mais eficientes em se ajustar e resistir ao déficit hídrico, o que levou à maior qualidade de mudas.

## ANEXOS

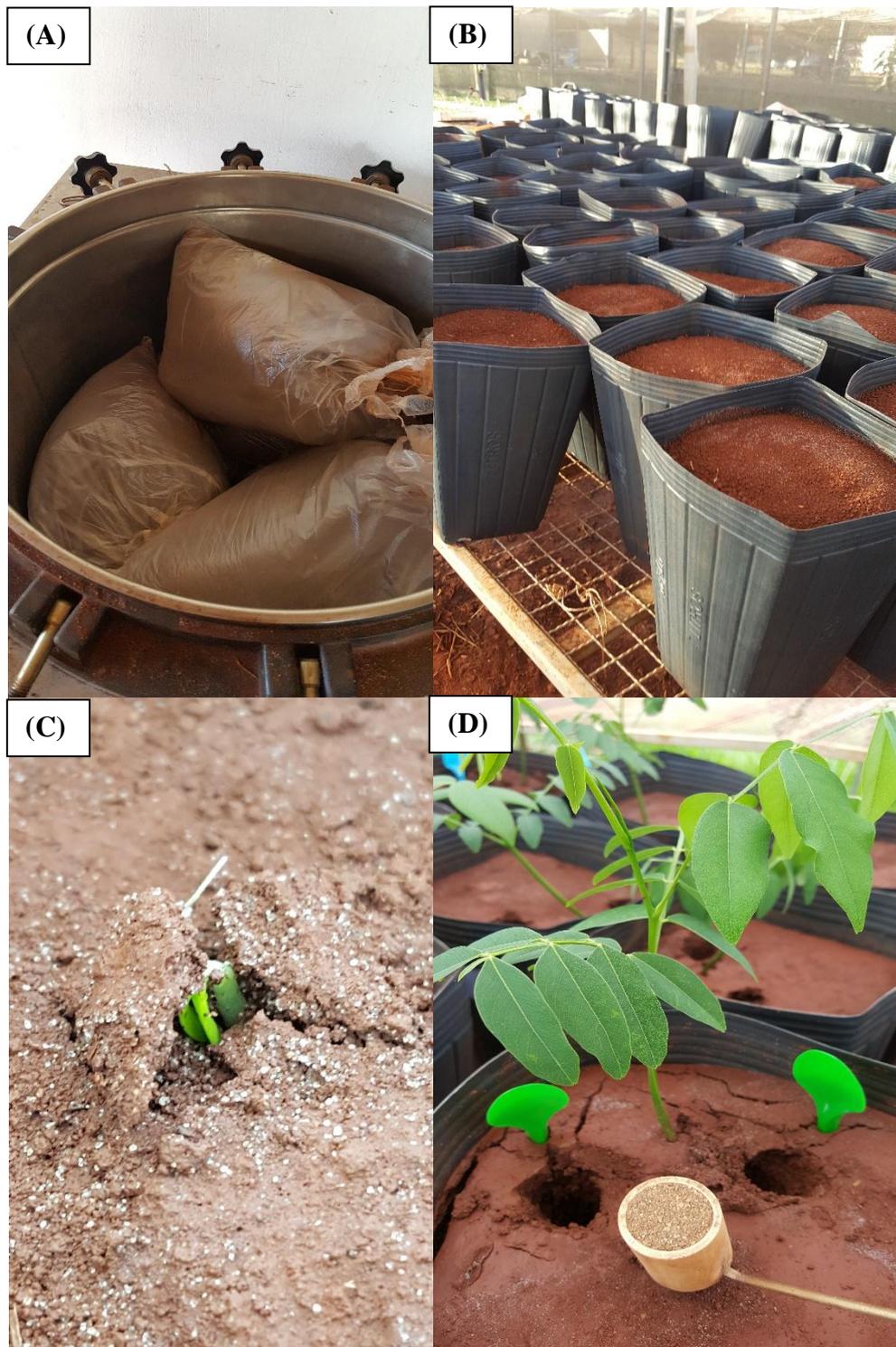


FIGURA 1. Substrato composto da mistura de terra+areia (2:1), sendo preparado para esterilização em autoclave (A); vasos de capacidade de 7 litros, contendo substrato, prontos para a semeadura de *Dipteryx. alata* Vogel (B); detalhe do processo de emergência de mudas de *D. alata* (C); detalhe da inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (D).

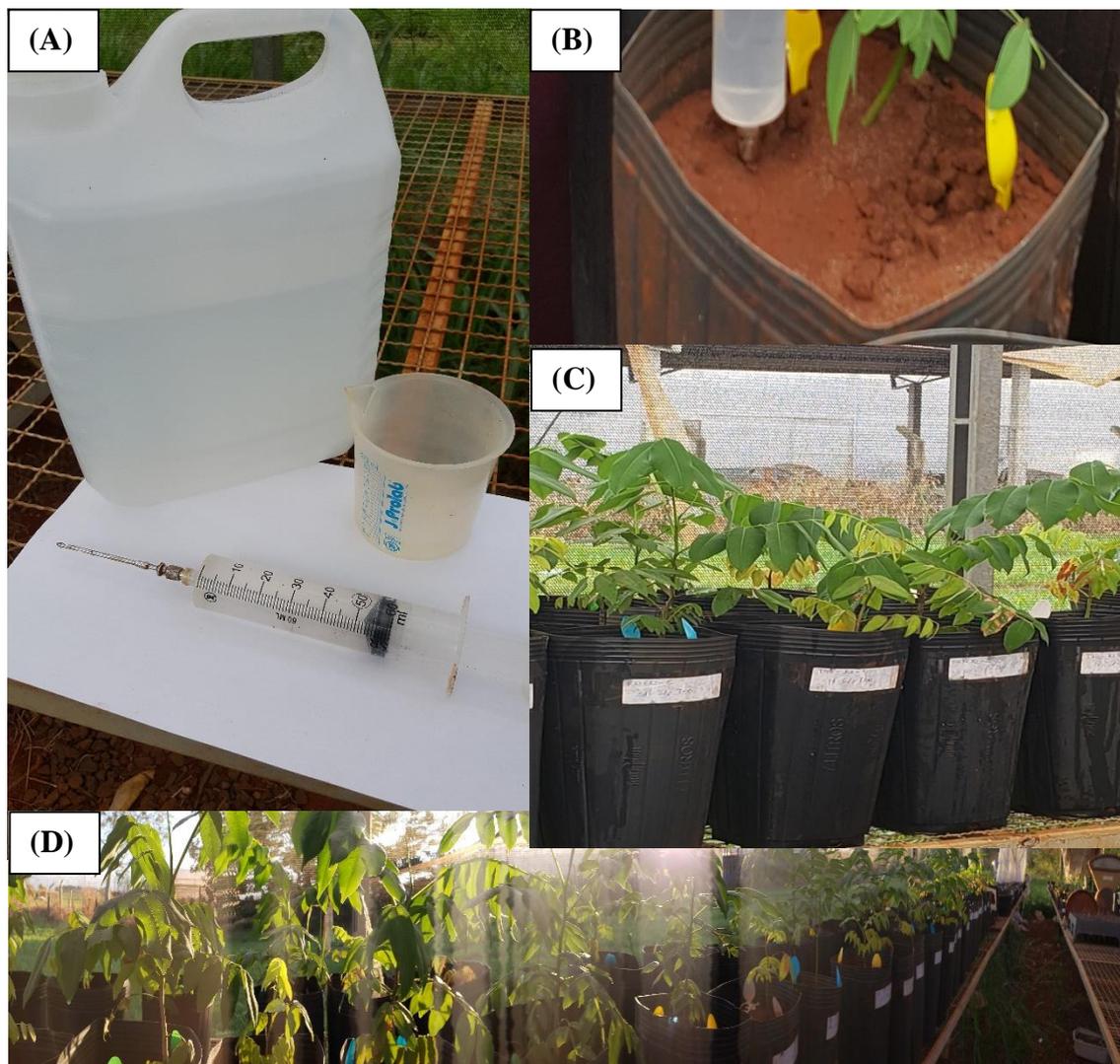


FIGURA 2. Solução de 50  $\mu$ M de ácido abscísico e utensílios para aplicação (A); detalhe da aplicação da solução de ácido abscísico (B); detalhe das mudas de *D. alata* estabelecidas em vasos (C); imagem panorâmica do experimento em telado (D).



FIGURA 3. Avaliação de trocas gasosas em mudas de *D. alata* utilizando o equipamento IRGA (A); avaliação do potencial hídrico em folhas de *D. alata* utilizando câmara de pressão (B); lavagem de raízes das mudas de *D. alata* em peneira para avaliação de parâmetros micorrízicos (C).