

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO – UFPE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL - PPGBV

VANESSA ANDRADE DE BARROS

**AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS ECOFISIOLÓGICOS EM PLANTAS JOVENS
DE *Cynophalla flexuosa* L. SOB INOCULAÇÃO DE FUNGO MICORRÍZICO
ARBUSCULAR SUBMETIDA AO DÉFICIT HÍDRICO RECORRENTE**

RECIFE, 2017

Catálogo na fonte

Elaine Barroso

CRB 1728

Barros, Vanessa Andrade de

Avaliação dos aspectos ecofisiológicos de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz sob inoculação com FMA e submetida ao déficit hídrico/ Vanessa Andrade de Barros – Recife: O Autor, 2015.

38 folhas : il., fig., tab.

Orientador: Mauro Guida dos Santos

Monografia (graduação) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências Biológicas, 2015

Inclui bibliografia

1. Leguminosa 2. Ecofisiologia vegetal 3. Caatinga I. Santos, Mauro Guida dos (orientador) II. Título

583.74

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2015-16

VANESSA ANDRADE DE BARROS

**AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS ECOFISIOLÓGICOS EM PLANTAS JOVENS
DE *Cynophalla flexuosa* L. SOB INOCULAÇÃO DE FUNGO MICORRÍZICO
ARBUSCULAR SUBMETIDA AO DÉFICIT HÍDRICO RECORRENTE**

Dissertação apresentada ao Programa de PósGraduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal. Área de concentração: Ecofisiologia Vegetal e Anatomia Ecológica

Orientador: Prof. Dr. Mauro Guida dos Santos

RECIFE, 2017

VANESSA ANDRADE DE BARROS

**AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS ECOFISIOLÓGICOS EM PLANTAS JOVENS
DE *Cynophalla Flexuosa* L. SOB INOCULAÇÃO DE FUNGO MICORRÍZICO
ARBUSCULAR SUBMETIDA AO DÉFICIT HÍDRICO RECORRENTE**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biologia Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Mauro Guida dos Santos

Aprovada em: 15/02/2017

BANCA EXAMINADORA

Mauro Guida dos Santos (Orientador)

Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Hiram Marinho Falcão (Examinador externo)

Universidade Federal de Pernambuco

Dra Emília Cristina Pereira de Arruda (Examinadora interna)

Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e em segundo ao meu orientador Mauro Guida dos Santos, pela confiança no meu potencial, por ter aceitado ser meu orientador novamente no mestrado, pela compreensão e apoio em todos os momentos.

As pessoas que compõe o laboratório de Fisiologia Vegetal, por todos os ensinamentos, por toda a ajuda nos momentos mais críticos, por todas as risadas e pela coletividade.

Gostaria também de agradecer a toda a minha família, amigos pelo o apoio e compreensão. A minha querida mãe agradeço por todo o esforço para criar eu e meu irmão, por todas as noites acordadas cuidando de mim, por ter me educado e me transformado na pessoa que sou, já que é no seu exemplo que me guio. No exemplo de uma mulher forte, que nunca desiste das coisas, que luta com todas as suas forças para dar melhores condições aos seus filhos, que mesmo trabalhando e sendo mãe, estuda mais do que ninguém. Muito obrigada mãe, tudo o que eu sou e sei, tudo isso devo a senhora que sempre me mostrou o caminho certo a seguir.

Agradeço ao CNPq pela concessão da bolsa, à Universidade Federal de Pernambuco, sem o apoio dessa instituição não teria sido possível a realização deste trabalho.

Resumo

A seca é o principal estresse abiótico que limita o aumento de biomassa no mundo. Em ambientes semiáridos espécies lenhosas sempre verdes podem apresentar diversos mecanismos de tolerância à baixa disponibilidade hídrica. O objetivo do estudo foi avaliar aspectos do metabolismo foliar na espécie *Cynophalla flexuosa* L., nativa da caatinga, em associação com FMA sob dois ciclos de deficiência hídrica em casa de vegetação. O experimento foi conduzido em delineamento experimental com arranjo fatorial de 2×2 (FMA e déficit hídrico), totalizando 4 tratamentos com 5 repetições cada. Os tratamentos de deficiência hídrica (Seca e FMA+Seca) tiveram a suspensão da água durante 7 dias (máximo estresse), e posteriormente foram reidratados por 3 dias consecutivos (ciclo 1). Em seguida, a rega foi novamente suspensa durante 10 dias (máximo estresse) e a reidratação após 3 dias seguidos (ciclo 2). Foram avaliados variáveis relacionadas ao status hídrico e o metabolismo do carbono foliar, além disso, biomassa seca e o custo de construção foliar. No máximo estresse, os maiores valores de conteúdo hídrico relativo nos dois ciclos foram encontrados nas plantas de FMA. No ciclo 1, a área foliar específica foi maior nas plantas não micorrizadas, com maior custo de construção nas plantas de FMA e maior concentração de Fósforo na parte subterrânea nas plantas de FMA+Seca. No ciclo 2, plantas de FMA+Seca apresentaram o menor custo de construção e uma maior área foliar específica. Durante esse período, os valores de biomassa e nutrientes foram superiores nas plantas micorrizadas, onde as de FMA+Seca apresentaram as maiores concentrações de N e K. Em conclusão, os FMAs foram eficientes para aumentar a tolerância de *C. flexuosa* ao déficit hídrico recorrente, com respostas mais proeminentes no ciclo 2, indicando a importância de estudos que visam a recorrência do estresse hídrico, condição comum em ambiente semiárido.

Palavras-chave: Micorriza. Caatinga. Metabolismo foliar. Custo de construção Foliar. Trocas gasosas.

ABSTRACT

Drought is the main abiotic stress limiting the increase of biomass in the world. In semi-arid environments, evergreen woody species may present several mechanisms of tolerance to low water availability. The objective of the study was to evaluate aspects of foliar metabolism in *Cynophalla flexuosa* L., native to the caatinga, in association with AMF under two cycles of water deficit in greenhouse. The experiment was conducted in a 2×2 factorial arrangement (AMF and water deficit), totaling 4 treatments with 5 replicates each. The treatments of water deficiency (Drought and AMF + Drought) were suspended for 7 days (maximum stress), and then rehydrated for 3 consecutive days (cycle 1). The irrigation was then suspended again for 10 days (maximum stress) and rehydration after 3 consecutive days (cycle 2). Variables related to water status and leaf carbon metabolism were evaluated, in addition, dry biomass and the cost of leaf construction. At maximum stress, the highest values of relative water content in the two cycles were found in the AMF plants. In cycle 1, the specific leaf area was higher in non-mycorrhizal plants, with higher construction costs in AMF plants and higher concentration of Phosphorus in the underground part of AMF + Drought plants. In cycle 2, AMF + Drought plants had the lowest cost of construction and a larger specific leaf area. During this period, biomass and nutrient values were higher in mycorrhizal plants, where AMF + Drought presented the highest concentrations of N and K. In conclusion, the AMFs were efficient to increase tolerance of *C. flexuosa* to recurrent water deficit, with more prominent responses in cycle 2, indicating the importance of studies aimed at the recurrence of water stress, a common condition in a semi-arid environment.

Keywords: Mycorrhiza. Caatinga. Leaf metabolism. Leaf construction cost. Gas exchange.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Assimilação Líquida de CO ₂
AFE.....	Área Foliar Específica
CC.....	Custo de Construção
CHR	Conteúdo Hídrico Relativo
CST	Carboidratos Solúveis Totais
DFFF.....	Densidade de fluxo de fons fotossintéticos
DPV.....	Déficit de Pressão de Vapor
e _a	Pressão de vapor de água
e _s	Pressão de vapor saturante
EFUE	Eficiência fotossintética da utilização de energia
EFUK	Eficiência fotossintética no uso do Potássio
EFUN.....	Eficiência fotossintética no uso do Nitrogênio
EFUP	Eficiência fotossintética no uso do Fósforo
EUA	Eficiência no uso da água
FMA	Fungo Micorrízico Arbuscular
g _s	Condutância estomática
K	Potássio
ME	Máximo Estresse
N.....	Nitrogênio
P	Fósforo
P.A.....	Parte aérea
P.S.....	Parte subterrânea
PF.....	Peso Fresco
PS	Peso Seco
PT.....	Peso Túrgido
URS	Umidade Relativa do solo

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Porcentagem de colonização micorrízica de plantas jovens de *Cynophalla flexuosa* em dois ciclos de déficit hídrico, em casa de vegetação. (n=5±E.P).

Tabela 2. Medidas de biomassa [parte subterrânea, aérea e razão P.A/P.S (aérea/subterrânea)-g], área foliar específica (área foliar/biomassa- AFE) em plantas jovens de *Cynophalla flexuosa* em dois ciclos de déficit hídrico com 4 tratamentos: Controle, FMA, Seca e FMA+Seca, em casa de vegetação. (n=5± E.P)

Tabela 3. Medidas de nutrientes [parte subterrânea, aérea-g] e eficiência no uso de nutrientes em plantas jovens de *Cynophalla flexuosa* em dois ciclos de déficit hídrico com 4 tratamentos: Controle, FMA, Seca e FMA+Seca, em casa de vegetação. (n=5± E.P)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. A- Conteúdo hídrico relativo (CHR- %) e B- Umidade relativa do solo (URS-%) em plantas jovens de *Cynophalla flexuosa* em dois ciclos de déficit hídrico com 4 tratamentos: controle, FMA, Seca e FMA+Seca, em casa de vegetação. A seta indica o dia do máximo estresse e as linhas pontilhadas a divisão de um ciclo para o outro. (n=5± E.P)

Figura 2. Trocas gasosas nas folhas de plantas jovens de *Cynophalla flexuosa* em dois ciclos de déficit hídrico com 4 tratamentos: controle, FMA, Seca e FMA+Seca, em casa de vegetação. A seta indica o máximo estresse e as linhas pontilhadas a divisão de um ciclo para o outro. Os parâmetros são: condutância estomática A- (gs); B - taxa de assimilação líquida de CO₂ (A); C - eficiência no uso da água (EUA) e D- Déficit pressão de vapor (DPV). (n=5± E.P).

Figura 3. Carboidrato solúveis totais nas folhas de plantas jovens de *Cynophalla flexuosa* em dois ciclos de déficit hídrico com 4 tratamentos: controle, FMA, Seca e FMA+Seca, em casa de vegetação. Máximo estresse-A e Reidratação- B. (n=5± E.P)

Figura 4. Custo de construção Foliar de plantas jovens de *Cynophalla flexuosa* em dois ciclos de déficit hídrico com 4 tratamentos: controle, FMA, Seca e FMA+Seca, em casa de vegetação. Os parâmetros são: Custo de construção foliar (CC) -A e eficiência fotossintética da utilização de energia (EFUE) - B. (n=5± E.P)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
2.1 Descrição e distribuição da espécie	15
2.2 Déficit hídrico	15
2.3 Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMA)	17
2.4 Crescimento vegetal ,custo de construção foliar e área foliar específica	19
3 OBJETIVOS	21
3.1 Objetivo Geral	21
3.1.1 Objetivos Específicos	21
4 METODOLOGIA	22
4.1 Material Vegetal	22
4.2 Condições de crescimento Local de estudo	22
4.3 Multiplicação dos Fungos Micorrízicos Arbusculares	22
4.4 Inoculação	23
4.5 Tratamentos	23
4.6 Conteúdo hídrico relativo foliar (CHR) e umidade relativa do solo (URS)	24
4.7 Colonização micorrízica	24
4.8 Trocas gasosas, Déficit de pressão de vapor (DPV) e Densidade de fluxo de fótons fotossintéticos (DFFF)	24
4.9 Carboidratos Solúveis Totais	25
4.10 Biomassa	25
4.11 Área foliar, área foliar específica e custo de construção foliar	25
4.12 Nutrientes	26
4.13 Análise estatística	27
5 RESULTADOS	28
5.1 Conteúdo hídrico relativo (CHR) e umidade relativa do solo (URS)	28

5.2 Colonização micorrízica	30
5.3 Trocas gasosas	30
5.3 Carboidratos solúveis totais	32
5.4 Biomassa e área foliar específica (AFE)	33
5.5 Custo de construção foliar e EFUE	34
5.6 Nutrientes	35
6 DISCUSSÃO	37
REFERÊNCIAS	40

1 INTRODUÇÃO

A seca é um dos principais fatores que limita a produção de biomassa vegetal, bem como influencia a distribuição de espécies e a biodiversidade dos ecossistemas (MANAVALAN et al., 2009). A restrição na disponibilidade de água acarreta uma série de mudanças morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares em todos os órgãos da planta afetando negativamente o crescimento (WANG et al., 2001).

Em condições de estresse hídrico, as plantas podem manter a homeostase, mas esta resposta é dependente da intensidade do estresse e o momento da exposição bem como o número de eventos de estresse (CHAVES et al., 2009). Estudos prévios têm demonstrado que, algumas espécies ao passarem por mais de um evento de estresse modifica suas respostas fisiológicas (WALTER et al., 2011; RIVAS et al., 2013). Esse fenômeno, conhecido como *hardening* (endurecimento), sugere que as plantas têm maior tolerância ao estresse devido a alterações bioquímica e/ou alterações epigenéticas que ocorrem após a primeira exposição à perturbação do ambiente (BRUCE et al., 2007).

Os ciclos repetidos de estresse hídrico são comuns em ambientes como a caatinga, uma floresta tropical sazonalmente seca, que recobre a maior parte da região nordeste brasileira. Por causa do seu clima, com chuvas concentradas em 03 a 04 meses consecutivos por ano e alta evapotranspiração do solo, as plantas são submetidas a um déficit hídrico constante e severo (SANTOS et al., 2014), principalmente as poucas espécies lenhosas sempre verde, as quais devem apresentar diferentes mecanismos de tolerância a baixa disponibilidade hídrica.

Em condições naturais, as plantas crescem em associação com vários microrganismos do solo, sendo um mecanismo de adaptação intrínseca (RUIZ-LOZANO et al., 2012). Mais de 80% das plantas terrestres realizam associação com os fungos micorrízicos arbusculares, e cerca de 50% da comunidade microbiana do solo é de micorrizas (BERBARA et al., 2006), dessa forma a associação com os FMAs são apontados como importante estratégia das plantas para suportar condições adversas (PAGANO et al., 2008). A associação das plantas com micorrizas é considerada uma simbiose, pois há translocação de material nas duas direções: carboidratos para o fungo,

proveniente do processo fotossintético, água e nutrientes inorgânicos para a planta disponibilizados pelos fungos, principalmente o fósforo (VANCE et al., 2003).

Estudos prévios sugerem mecanismos pelos quais a simbiose com os FMA pode aliviar a deficiência hídrica em muitas plantas, onde os mais importantes incluem ganho e transferência da água através da hifa fúngica para a planta, mudanças nas propriedades de retenção da água no solo (AUGÉ, 2004), ganhos nas trocas gasosas e eficiência do uso da água (NEUMANN et al., 2009, FROSI et al., 2016), aquisição e translocação de nutrientes, bem como a estruturação do solo (MICHALIS et al., 2013).

Diante da restrição hídrica a fotossíntese é um dos processos do metabolismo primário dos vegetais que é mais afetado (LIU & HUANG, 2008). Existem vários mecanismos ecofisiológicos que contribuem para a tolerância à seca em plantas. Mecanismos esses como a diminuição da condutância estomática, que é um dos primeiros mecanismos de tolerância utilizada na maioria das plantas (GALLE et al., 2011), redução na área foliar, aumento da eficiência no uso da água e alterações no metabolismo bioquímico (RIVAS et al., 2013; FROSI et al., 2016).

A *Cynophalla flexuosa* é uma das poucas espécies lenhosas sempre verde que ocorrem no semiárido do nordeste brasileiro. Assim, nossa pergunta central neste estudo é: a simbiose entre FMA e raízes de *C. flexuosa* poderia amenizar os efeitos da baixa disponibilidade hídrica no solo sobre aspectos da fisiologia foliar? Dentro desse contexto, o presente estudo visa avaliar alguns aspectos do metabolismo foliar na espécie *Cynophalla flexuosa* L. em associação com FMA sob dois ciclos de deficiência hídrica controlada. Diante do que foi exposto, nossa hipótese é que plantas jovens de *C. flexuosa* quando micorrizadas, apresentarão maior tolerância após o primeiro ciclo de estresse hídrico.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Descrição e distribuição da espécie

A *Cynophalla flexuosa* L. é uma espécie sempre verde, conhecida popularmente como feijão-bravo, pertence à família Caparaceae que possui 12 gêneros e 29 espécies. É uma espécie nativa originária do Nordeste brasileiro, com porte arbustivo-arbóreo e folhas perenes, ocorrendo na região Norte, Nordeste, Centro-oeste, Sudeste e Sul do Brasil, em estados como Acre, Amazonas, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Espírito Santo, Minas Gerais (LEWIS 2015).

Sua altura pode variar entre 3,0 - 6,0 m, com caule simples ou múltiplo, ereto, geralmente sarmentoso nas extremidades, com cascas cinza escuro, levemente rugosa nas plantas idosas, folhas alternas, simples, obovadas, ou mesmo levemente lobadas, com face ventral e dorsal glabras (LIMA 1989). Seu ciclo reprodutivo ocorre durante o período seco, o que lhe garante certa independência em relação ao ciclo das chuvas.

A *C. flexuosa* possui um grande potencial econômico, pois sua madeira pode ser utilizada para o fornecimento de estacas e lenhas, desperta grande interesse por ser encontrada em diversos tipos de solos e de clima e por apresentar potencial forrageiro para utilização no semiárido, possui uso medicinal e ornamental, além de ser indicada para recuperação de solos (FIGUEIREDO 2005). Entretanto, apesar da sua importância, pouco se sabe sobre o potencial de sua utilização e da sua fisiologia.

2.2 Déficit hídrico

A seca é hoje um dos principais fatores que limita a produção e crescimento vegetal, tanto na agricultura como em condições naturais, bem como influencia a distribuição de espécies e a biodiversidade dos ecossistemas (MANAVALAN et al., 2009). O último relatório do Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (IPCC), divulgado em 2014, trouxe uma síntese de diversos estudos, e através deles foram construídos modelos climáticos que revelaram quatro cenários possíveis que poderemos enfrentar nos próximos anos (IPCC, 2014). Nele, a previsão de variação climática apresentada para o Nordeste brasileiro, no ano de 2050, é de um aumento na

temperatura de até 2,5°C, redução da precipitação em até 35%, combinado com um aumento global de CO₂ atmosférico que poderá atingir 550 ppm (partes por milhão).

Esse cenário é preocupante, quando consideramos o fato de que 62% do Nordeste é semiárido (FILHO et al., 2014). Grande parte desse semiárido é ocupado pela Caatinga, uma floresta tropical sazonalmente seca, que apresenta aproximadamente 735.000 km² de extensão, baixos índices pluviométricos (de 500 a 700 mm por ano), temperatura média de 28 °C e grandes manchas de solos rasos e pedregosos que armazenam pouca água.

A restrição na disponibilidade de água acarreta uma série de mudanças morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares em todos os órgãos da planta afetando negativamente crescimento e produtividade (WANG et al., 2001). Nesse aspecto, a fotossíntese é um dos processos do metabolismo primário dos vegetais que é mais afetado pela restrição hídrica (LIU & HUANG, 2008). A diminuição da difusão de CO₂ da atmosfera para o sítio de carboxilação é geralmente considerada a principal causa da diminuição da fotossíntese em planta sob déficit hídrico moderado (FLEXAS et al., 2004). Outra resposta das plantas à baixa disponibilidade de água é a inibição de crescimento aéreo que, apesar de diminuir a área transpiracional, acaba reduzindo também a radiação interceptada durante todo o período vegetativo e, conseqüentemente, ocorre diminuição da produção de biomassa (PEREIRA & CHAVES, 1993). Além disso, a redução de gás carbônico (CO₂) captado para fotossíntese por devido ao fechamento estomático, acaba induzindo um estresse oxidativo, que pode afetar o metabolismo normal através de danos oxidativos a lipídios, proteínas e ácidos nucleicos (POMPELLI et al., 2010). Condições de seca severa podem ainda levar a interrupção do desenvolvimento reprodutivo, senescência, murcha, dessecação e morte de folhas imaturas (SCHULZE, 1986).

Dentre as adaptações fisiológicas, anatômicas e morfológicas que permitem as plantas sobreviverem em ambientes adversos, a cutícula e os estômatos são os principais responsáveis pela manutenção do status hídrico foliar da planta. Juntos, eles formam um sistema integrado de funções fisiológicas que aperfeiçoa a atividade fotossintética e as trocas gasosas como um todo (OLIVEIRA et al., 2003). Os estômatos são os maiores responsáveis pelo controle dos processos vitais da planta, como a fotossíntese e a transpiração (RODRIGUES et al., 2011). A condutância estomática se relaciona diretamente com a intensidade luminosa e o grau de hidratação foliar, regulando a

abertura e o fechamento do estômato (RODRIGUES et al., 2011). Assim, a condutância estomática, moldada de acordo com as atuais condições ambientais, é uma estratégia evolutiva da planta para maximizar sua eficiência do uso da água, controlando simultaneamente a transpiração e a absorção de CO₂, bem como definindo a estratégia de sobrevivência da planta (RODRIGUES et al., 2011). Para auxiliar os estômatos nesse desafio de controlar a perda de água para a atmosfera, surge a cutícula que representa a principal barreira contra a perda de água nas folhas por um controle não estomático (FIGUEIREDO et al., 2012).

Depois da fotossíntese, um dos processos mais afetados durante a seca é o metabolismo de carboidratos, devido à diminuição de oferta de CO₂ para as enzimas carboxilases, como consequência do fechamento estomático. Análises bioquímicas sugerem que alterações no processo de quebra de carboidratos sob estresse hídrico seja uma resposta adaptativa (ALAM et al., 2010). Em alguns casos, quando o nível de água atinge valores muito baixos, observa-se tanto uma diminuição na taxa de metabolismo de carbono fotossintético, como mudanças qualitativas (MARQUES DA SILVA & ARRABAÇA, 2004).

2.3 Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMA)

A micorrização é uma associação simbiótica, na maioria das vezes mutualística, entre alguns tipos de fungos e raízes de plantas. As micorrizas são classificadas em as ectomicorrizas e as endomicorrizas. As endomicorrizas mais comuns são as do tipo arbuscular, formadas pelos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) do Filo Glomeromycota, que penetram intracelularmente no córtex da raiz hospedeira (SCHÜBLER et al., 2001). A micorrização por FMAs é de longe a mais amplamente distribuída, sendo encontrada em praticamente todas as latitudes e na maioria dos ecossistemas, realizando associação com mais de 95% das plantas vasculares existentes (SMITH & READ, 2008). A planta fornece substrato energético ao fungo, que pode chegar a 20% dos fotossintatos (KASCHUK et al., 2009), enquanto o fungo através do seu micélio externo, capta nutrientes do solo promovendo uma melhoria nutricional para sua hospedeira (EVELIN et al., 2009; RUIZ-LOZANO et al., 2012).

Os FMAs possuem 240 espécies formalmente descritas, das quais 119 têm sido registradas no Brasil (SOUZA et al., 2010), o que representa, aproximadamente, 50% da

diversidade total. A ocorrência e a densidade dos FMAs dependem das características da planta hospedeira, do fungo e de fatores edafoclimáticos, bem como de fatores antrópicos, os quais exercem seus efeitos pelo manejo e uso dos solos (STADDON et al., 2003). A composição de espécies arbusculares parece ser afetada pela composição de espécies de plantas. Por isso, a gestão da diversidade da flora local é importante para sustentar a comunidade de FMAs. Atividades antrópicas como a monocultura parecem mudar a composição de espécies FMA e reduzir a sua diversidade populacional (PAGANO, 2007).

Diferentemente das plantas, todos os FMAs são simbioses obrigatórios, necessitando dessa associação para completar o seu ciclo de vida, contudo, é importante que essa hospedeira seja compatível (SMITH & LEIA, 2008). Os primeiros propágulos dos fungos são formados no solo, desenvolvendo estruturas assimbióticas que não sobrevivem muito tempo fora das raízes das plantas. Forma-se então, a partir das hifas infectivas, um micélio que perceberá os exsudatos das raízes, iniciando assim, a colonização. O fungo então penetra nas células da epiderme ou pelos radiculares e formam uma unidade de infecção. Como último alvo, estão as células corticais mais interiores, onde as hifas penetram a fim de se diferenciarem em arbúsculos, estruturas que representam o principal sítio de troca de nutrientes (BONFANTE, 2005). Assim, é estabelecida uma perfeita relação morfológica e funcional entre a planta e o fungo, proporcionando, na maioria das vezes, importantes benefícios para os vegetais (CHEN et al., 2005).

A participação dos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) na diversidade e no funcionamento dos ecossistemas tem sido reconhecida, principalmente, devido ao seu efeito sobre a diversidade e produtividade das plantas (SOUZA et al., 2008). Essa simbiose é conhecida por ser uma das estratégias mais antigas e difundidas de plantas para melhorar a aquisição de nutrientes e de lidar com o estresse ambiental (BRACHMANN et al., 2006). A maioria das plantas em ecossistemas naturais dependem, em graus diferentes, dessa simbiose para a absorção de fósforo (P), nitrogênio (N) e outros nutrientes; conseqüentemente, eles são de grande interesse para a restauração de terras degradadas e conservação dos ecossistemas naturais. Os FMAs podem gerar outros benefícios para plantas, como: aumento da biomassa e produção de sementes (PAGANO et al., 2008), estruturação do solo (RILLIG & MUMMEY, 2004), aumento de pigmentos bioprotetores, ajudam na aquisição e a translocação de

nutrientes, aumentam a capacidade de absorção de água (SOUZA et al., 2008), melhoramento no crescimento de muda vegetal, reduzindo o tempo de viveiro (SIQUEIRA, 2002). Os efeitos benéficos em podem ser observados em diferentes espécies vegetais, desde lenhosas até herbáceas, após a associação com FMA (ZANGARO et al., 2007), mostrando que a presença dos FMAs é essencial para a sustentabilidade dos ecossistemas, desenvolvimento das plantas e a manutenção da diversidade biológica.

Em condições de déficit hídrico, vários estudos realizados sugerem mecanismos pelos quais a simbiose com os FMA pode aliviar o estresse hídrico em muitas plantas. Dentre os mecanismos mais importantes, são destacados ganho e transferência da água através da hifa fúngica para a planta, mudanças nas propriedades de retenção da água no solo (AUGÉ, 2004), melhor ajustamento osmótico (KUBIKOVA et al., 2001), ganhos nas trocas gasosas e eficiência do uso da água (NEUMANN et al., 2009) e proteção dos danos oxidativos gerados pela seca (PORCEL et al., 2003).

2.4 Crescimento vegetal ,custo de construção foliar e área foliar específica

Na maioria das vezes a sobrevivência e reprodução dependem do tamanho da planta e, por conseguinte, a taxa de crescimento (SHIPLEY, 2006). A taxa de crescimento superior facilita a captura dos recursos disponíveis e dá à planta uma vantagem competitiva sobre as demais (GROTKOPP & REJMANEK,2007). O sucesso das espécies depende do uso eficiente de recursos disponíveis. Uma baixa exigência de recursos pode aumentar a capacidade competitiva das espécies. A exigência de uma espécie pode ser influenciada pela quantidade de energia necessária para executar funções de crescimento (NAGEL & GRIFFIN, 2001). Uma economia de energia permite as espécies alocar recursos em estratégias de crescimento tais como incremento de biomassa, alta taxa de crescimento relativo, crescimento da raiz e produção de sementes (SONG et al., 2007).

Em muitos estudos o crescimento das plantas é simplesmente considerado como a acumulação de biomassa, sem considerar a composição química da biomassa construída. No entanto, a maneira que uma planta investe os fotoassimilados e os minerais absorvidos em diferentes compostos químicos, influencia diretamente o seu

desempenho de crescimento, o custo de construção foliar (CC) e os custos de manutenção (CM) (VILLAR et al., 2006).

O CC é definido pela quantidade de glicose utilizada para a construção de um grama de biomassa (WILLIAMS et al., 1987), ou seja, a quantidade de glicose necessária a construção de esqueletos de carbono, reduzindo o poder na forma de NADPH e energia para a síntese de compostos orgânicos e normalmente variam de cerca de 1,1 a cerca de 1,9 g de glicose g⁻¹ para as folhas de diferentes espécies (POORTER et al., 2006;. VILLAR et al., 2006). O CC está indiretamente relacionado com a taxa de crescimento relativo (WILLIAMS et al., 1987), e pode ser usado para avaliar as diferenças no uso dos recursos, indicando a eficiência entre espécies de plantas (NAGEL & GRIFFIN, 2001).

Geralmente, um baixo CC está associado a taxa de crescimento relativo alta e até mesmo pequena diferenças no CC pode levar a diferenças substanciais na taxa de crescimento (GROTKOPP & REJMANEK, 2007; ZHENG et al., 2009). Para as plantas com o custo de construção foliar baixo, é mais vantajoso e mais econômico bioquimicamente e estruturalmente o investimento de energia na construção de uma nova folha, em vez de investir em estratégias para manter as folhas velhas, (POORTER & BONGERS, 2006;. ZHU et al., 2013). Por outro lado, as plantas com os custos de construção foliar alto, podem investir os seus recursos em metabólitos de defesa, que são caros em termos de energia (WESTOBY et al., 2002).

Outra característica funcional chave que pode permitir a compreensão dos comportamentos ecofisiológicos das plantas e do crescimento, é a área foliar específica. A mesma influencia diretamente no uso da capacidade fotossintética e na eficiência de recursos, tal como a luz, água e nutrientes (NOUVELLON et al., 2010). Em geral, a área foliar específica tende a ser mais elevada nas plantas que colonizam áreas que estão no início dos estágios sucessionais. Nessas áreas sucessionais iniciais, o investimento no crescimento é mais importante do que o investimento em atributos que permitem, a longo prazo, a persistência das plantas, como a produção de compostos de defesa (ZHU et al., 2013). Geralmente plantas que possuem taxas elevadas de área foliar específica têm maior conteúdo de nitrogênio na folha, o que sugere que a maior parte da energia é utilizada para a síntese de proteínas, principalmente sob a forma de Rubisco, que contribui para taxas fotossintéticas mais elevadas (VILLAR FOTOSSINTÉTICOS & MERINO, 2001). Por outro lado, plantas que possuem folhas menores podem utilizar

isso como uma estratégia para diminuir o tempo que foi necessário para recuperar os custos de construção da folha (POORTER et al., 2006).

Embora já se tenha alguns estudos disponíveis a respeito CC e área foliar associado a parâmetros ecofisiológicos (SONG et al., 2007; OSUNKOYA et al., 2010 ; SINGH et al., 2011; FALCÃO et al., 2015), ainda pouco se sabe sobre a relação desses parâmetros funcionais em plantas associadas aos fungos micorrízicos arbusculares.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar os aspectos ecofisiológicos em plantas jovens de *Cynophalla flexuosa* em associação com FMAs em dois ciclos recorrentes de déficit hídrico em condições de casa de vegetação.

3.1.1 Objetivos Específicos

- Quantificar a colonização micorrízica em plantas jovens de *C. flexuosa* nos diferentes tratamentos após os ciclos recorrentes de déficit hídrico.
- Avaliar as trocas gasosas em plantas jovens de *C. flexuosa* nos diferentes tratamentos após os ciclos recorrentes de déficit hídrico.
- Analisar o ganho de biomassa nos diferentes tratamentos.
- Avaliar o metabolismo bioquímico foliar dos carboidratos solúveis totais em plantas jovens de *C. flexuosa* nos diferentes tratamentos após os ciclos recorrentes de déficit hídrico.

4 METODOLOGIA

4.1 Material Vegetal

As sementes de *Cynophala flexuosa* foram coletadas em 15 indivíduos em Serra Talhada. As sementes foram desinfetadas com hipoclorito de sódio (0,5%) e germinadas em bandejas contendo vermiculita. Todo o solo utilizado no experimento foi coletado na Estação Experimental de Itapirema-Goiana-PE, do Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA).

4.2 Condições de crescimento Local de estudo

O experimento foi conduzido em novembro de 2015 em casa de vegetação da Universidade Federal de Pernambuco (8°08'58''S; 34°56'55''W), com temperatura média de 30°C e umidade relativa do ar de 70%, onde as plantas foram mantidas sob hidratação ideal (capacidade de pote) até a aplicação do déficit hídrico.

A densidade de fluxo de fóton fotossintético (DFFF) era entre 500 e 900 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ nos dois ciclos e o DPV no máximo estresse do ciclo 1 era de 1,49 kPa e no ciclo 2 era 1,44 kPa, já na reidratação do ciclo 1 era de 1,45 kPa e no ciclo 2 de 1,20 kPa (Fig. 2D).

4.3 Multiplicação dos Fungos Micorrízicos Arbusculares

Os inóculos de FMA foram obtidos através da multiplicação através de material proveniente do banco de germoplasma do Departamento de Micologia da UFPE. As espécies multiplicadas foram *Acaulospora longula* Spain & N.C. Schenck (URM FMA 07) e *Claroideoglossum etunicatum* (W.N. Becker & Gerd.) C. Walker & A. Schüßler (URM

FMA 03), tendo como plantas multiplicadoras o painço (*Panicum miliaceum*) e sorgo (*Sorghum bicolor*), em ciclo de três meses. A multiplicação foi realizada em vasos de 5 kg, em solo autoclavado (120° por 1 h, em dois dias alternados). O número de esporos dos FMAs foi determinado pelo método de peneiramento por via úmida, em uma alíquota de 50 g de solo, seguindo-se centrifugação a 700 x g por 3 minutos em sacarose (40%, m/v) (JENKINS,1964). As quantificações dos esporos foram feitas sob microscópio estereoscópico com aumento de 40 vezes, em placas com canaletas concêntricas (GERDEMANN & NICOLSON 1963).

4.4 Inoculação

Quando as plântulas apresentaram o primeiro par foliar, foram transferidas para copos plásticos de 100 mL, com solo autoclavado e, nessa ocasião, foi feita a inoculação com as duas espécies de FMA, *A. longula* e *C. etunicatum*, utilizando solo inóculo com, aproximadamente, 150 esporos por espécie, totalizando 300 esporos por planta, depositadas na região das raízes. Após 30 dias da inoculação, as plantas jovens juntamente com o torrão de solo, foram transferidas para sacos de mudas contendo 5 kg de solo, não esterilizado. Nesse momento, foi feita a aplicação de superfosfato simples na concentração de 27 mg.dm⁻³ para todas as repetições. Essa aplicação foi realizada para otimizar o processo de colonização.

4.5 Tratamentos

Após a transferência das plantas jovens para os sacos de muda, as mesmas foram mantidas hidratadas até os 6 meses de desenvolvimento. O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, com arranjo fatorial de 2 × 2, correspondendo ao processo de inoculação (presença e ausência de FMAs) e ao déficit hídrico (irrigado e suspenso), totalizando 4 tratamentos com 5 repetições (Tabela 1). As plantas foram divididas em dois grupos, onde as plantas do grupo 1 (1° Estresse) foram submetidas a suspensão hídrica até o máximo estresse –ME (gs próximo de 0) e logo após foram reidratadas. As do segundo grupo passaram pelo mesmo processo do grupo 1, só que após a reidratação passaram novamente por um novo déficit hídrico, totalizando assim dois períodos de deficiência hídrica.

4.6 Conteúdo hídrico relativo foliar (CHR) e umidade relativa do solo (URS)

Discos foliares de tamanho conhecido foram coletados às 06:00h e pesados imediatamente em balança de precisão (AND H200, Tóquio, JP) para obtenção do peso fresco (PF). Logo em seguida, os discos foliares foram embebidos por 24 h em água deionizada, e pesados novamente para obtenção do peso túrgido (PT). Posteriormente, os discos foram secos em estufa de ventilação forçada por 48 h, e pesados novamente para obtenção do peso seco (PS). O conteúdo hídrico relativo foliar (CHR) foi calculado através da seguinte fórmula, de acordo com Barrs e Weatherley (1962): $CHR(\%) = \frac{PF-PS}{PT-PS} \times 100$. A umidade relativa do solo (URS) foi obtida em todas as repetições utilizadas nas avaliações de trocas gasosas com a utilização de medidor de umidade do solo (v/v) (HFM 2030, Falker, Porto Alegre, BR).

4.7 Colonização micorrízica

A quantificação da colonização das raízes foi feita por observação das estruturas fúngicas. Para isso, foi coletado 1g de raiz de cinco plantas por tratamento as quais foram clarificadas com KOH (10%; p/v) por 48 h em temperatura ambiente (25°C), lavadas com água destilada e coradas com fucsina ácida (0.1%; p/v) por 12 h. Cem fragmentos de 1 cm de cada amostra foram montados entre lâmina e lamínula e analisados em microscópio com aumento de 40 x (GIOVANNETTI & MOSSE, 1980). Foi considerada colonizada a planta que apresentou uma das seguintes estruturas próprias de FMA: arbúsculos, vesículas e/ou esporos e hifas.

4.8 Trocas gasosas, Déficit de pressão de vapor (DPV) e Densidade de fluxo de fótons fotossintéticos (DFFF)

As trocas gasosas foram mensuradas em folhas expandidas e não senescentes através de analisador de gases por infravermelho (IRGA, ADC, model LCI-Pro; Hoddesdon, UK), obtendo-se a condutância estomática (g_s), assimilação líquida de CO₂ (A), e foi calculada a eficiência do uso da água (EUA- Assimilação/Transpiração). As medidas foram realizadas entre 9:00h e 10:00h e a densidade de fluxo de fótons

foto-sintéticos (DFFF) foi determinada de acordo com a radiação global incidente no momento das medições, e variou entre 500 e 900 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. O déficit de pressão de vapor (DPV) foi calculado durante o experimento através da fórmula $e_s - e_a$, onde e_s é a pressão de vapor saturante e e_a é a pressão de vapor ambiente (CAMPBELL & NORMAN, 1998), utilizando a temperatura e umidade relativa do ar, obtida com termohigrômetro digital (Termo-Higro SH 122, J. Prolab, São José dos Pinhais, BR). No ciclo 1 de seca, o máximo estresse ocorreu após 7 dias de suspensão de rega; no segundo ciclo ocorreu após 10 dias de restrição hídrica.

4.9 Carboídratos Solúveis Totais

Folhas foram coletadas (~3g) as 15:00h durante o máximo estresse e no último dia da recuperação e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e estocadas a -20°C . As folhas foram utilizadas para determinar o teor carboídratos solúveis totais (CST), todas as leituras foram realizadas em espectrofotômetro de duplo feixe (Genesys 10S UV-Vis, Thermo Scientific, Waltham, USA). Para a extração dos CST foi utilizada 50 mg de massa fresca de folha para preparo da extração etanólica. Os CST foram mensurados de acordo com DUBOIS et al. (1956), usando D (+) glicose como padrão e a absorbância lida a 490 nm.

4.10 Biomassa

A parte aérea e subterrânea foram separadas e colocadas em estufa de ventilação forçada a 70°C por cinco dias. O material foi pesado em balança de precisão (AND H200, Tóquio, JP), obtendo-se o peso seco de cada parte e total. A partir desses dados foi calculado a razão parte aérea e subterrânea (PA/PS).

4.11 Área foliar, área foliar específica e custo de construção foliar

Quinze folhas não senescentes e completamente expandidas de cinco indivíduos por tratamento foram coletadas. As folhas foram digitalizadas, e as suas áreas foram determinado utilizando o programa Imagem - Pro Plus 4.5 (Media Cybernetics, Inc.,

rockville EUA). Depois de determinar as áreas foliares, as folhas foram secas em estufa a 60 °C durante 72h e pesado numa balança de precisão (HR-200, E, Tokyo, JP). As áreas foliares específicas (AFE) foram determinadas pela relações entre área foliar e as massas secas.

Para se obter os teores de cinzas (g kg^{-1}), 250 mg de matéria seca foram pesado numa balança de precisão e depois colocado numa mufla, onde manteve-se a 500 °C durante 6 h. Os teores de cinzas foram determinadas por as diferenças de peso pré e pós-mufla (LI et al., 2011).

O poder caloríficos ($\Delta H_C \text{ KJ g}^{-1}$) foi obtido pela combustão de 500 mg de matéria seca em um calorímetro (C200, IKA, Heiters-Heim, DE) de acordo com VILLAR & MERINO (2001). Os resultados foram determinadas pela fórmula: $\Delta H_C = \text{calorias} / (1 - \text{cinzas})$.

O custo de construção da folha por unidade de massa ($\text{g glicose g}^{-1} \text{ MS}$) foi calculada utilizando os resultados da cinza, concentração de nitrogênio e ΔH_C de acordo com WILLIAMS et al., (1987): $\text{CC}_{\text{massa}} = [((0,06968 \Delta H_C - 0,065) (1 - \text{Cinzas}) + 7,5 (\text{kN} / 14,0067))] / \text{GE}$, onde k é o estado de oxidação do azoto (+5 a -3 para o nitrato e amônio), e GE representa a eficiência de crescimento que se estima ser 0.87m (Penning de Vries et al., 1974). O custo de construção de folhas por unidade de área ($\text{g de glicose m}^{-2}$) foi calculada como a razão entre a massa CC e AFE.

A eficiência fotossintética da utilização de energia (EFUE) foi calculada com a razão da assimilação de CO_2 (A) pelo custo de construção foliar (NAGEL et al, 2005).

4.12 Nutrientes

Para a quantificação do nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K^+), foram utilizados 250 mg de material foliar e radicular seco. O material foi digerido em solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) em bloco digestor a 350 °C para obtenção do extrato das amostras (THOMAS et al., 1967). O conteúdo total de N foi determinado através da titulação do extrato com HCl depois da adição de ácido bórico e um indicador colorimétrico (THOMAS et al., 1967). O conteúdo de P foi determinado espectrofotometricamente (Spectrophotometer 600S, FEMTO, São Paulo, BR) de acordo com Murphy e Riley (1962) utilizando uma curva de concentração de P. O conteúdo de K^+ foi determinado por fotometria de chama (DM-62, Digimed, São Paulo, BR) utilizando uma solução de 5 ppm

de K^+ como padrão. Através dos resultados de N e P, foi calculada a razão N:P. A eficiência Fotossintética do uso de nutrientes (EFUN) foi determinada pela razão de assimilação de CO_2 e o conteúdo da folha de cada nutriente.

4.13 Análise estatística

Os dados foram submetidos a ANOVA fatorial, tendo-se como fatores os FMAs e o déficit hídrico, e quando necessário, as médias foram contrastadas pelo teste de Student Newman Keuls a 5%, através do programa Statistica 8.0 (StatSoft. Inc., Tulsa, OK 74104, USA). Os dados de colonização foram transformados para $\sqrt{\arccos(x)}$.

5 RESULTADOS

5.1 Conteúdo hídrico relativo (CHR) e umidade relativa do solo (URS)

O CHR no primeiro dia de experimento foi menor nas plantas controle do ciclo 1 quando comparadas aos demais tratamentos. No ME do ciclo 1 (7º dia) o CHR apresentou reduções nos tratamentos submetidos ao déficit hídrico (Seca e FMA+Seca) de 9 e 10%, respectivamente. Os maiores valores foram encontrados nas plantas do tratamento FMA, sendo superior em 11% quando comparadas as plantas controle. Após a reidratação, os valores foram recuperados em relação ao controle, sendo 12% superior nas plantas de Seca (Fig. 1A).

No ciclo 2 o CHR foi menor nas plantas de Seca quando comparadas aos outros tratamentos. No ME do ciclo 2 (10º dia), os tratamentos hidratados (Controle e FMA) apresentaram os maiores valores, enquanto os tratamentos submetidos a deficiência hídrica tiveram uma redução de 31 e 39% para FMA+Seca e Seca, respectivamente, comparado ao Controle. Na segunda reidratação, os tratamentos submetidos à seca apresentaram uma recuperação total do seu CHR (Fig. 1A).

A URS apresentou reduções nos tratamentos de déficit hídrico (Seca e FMA+Seca) a partir do segundo dia de experimento tanto para o ciclo 1, como para o ciclo 2. Após a reidratação as taxas foram recuperadas nos tratamentos submetidos à seca comparado aos tratamentos hidratados (Fig. 1B).

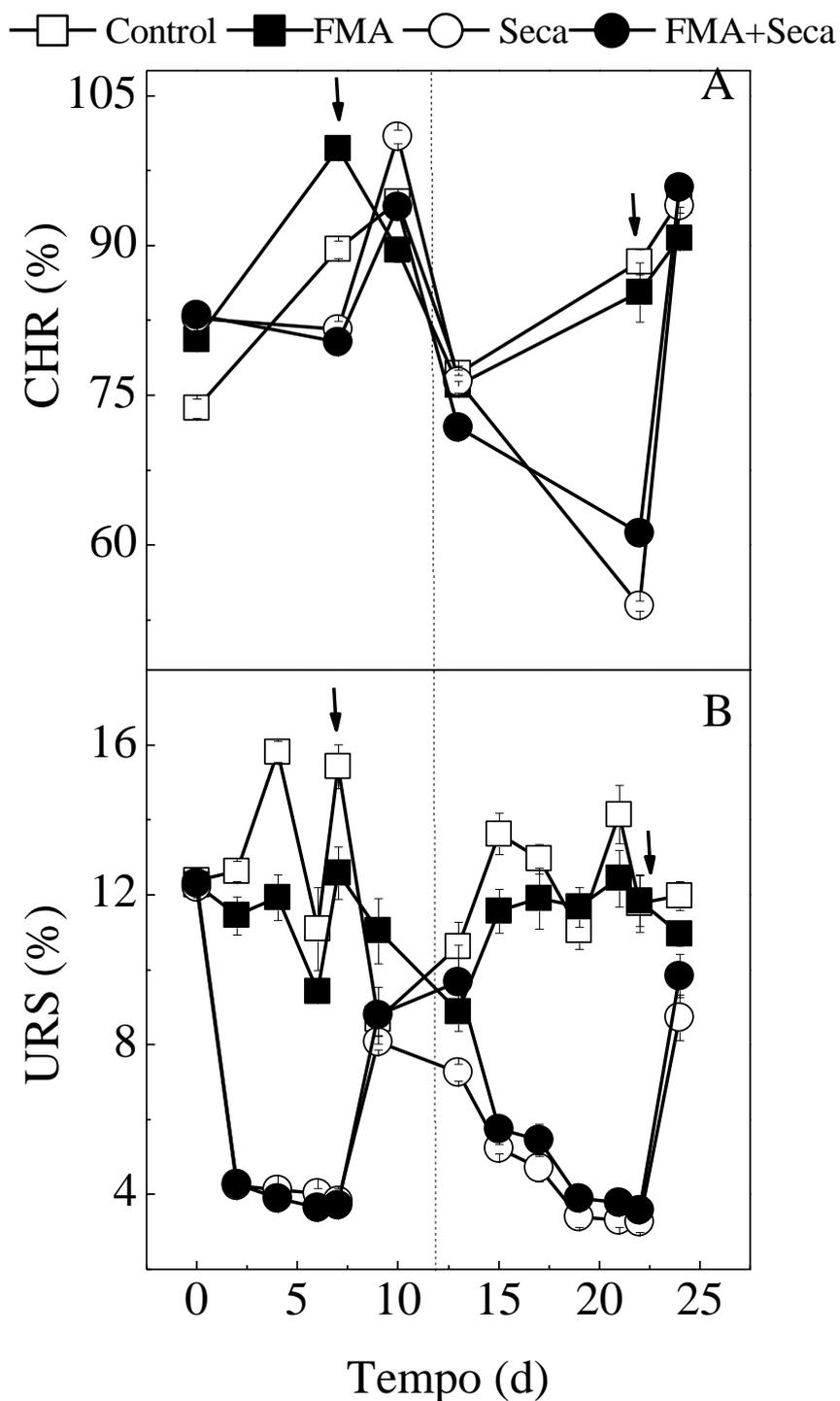


Figura 1. A- Conteúdo hídrico relativo (CHR- %) e B- Umidade relativa do solo (URS- %) em plantas jovens de *Cynophalla flexuosa* em dois ciclos de déficit hídrico com 4 tratamentos: controle, FMA, Seca e FMA+Seca, em casa de vegetação. A seta indica o máximo estresse e as linhas pontilhadas a divisão de um ciclo para o outro. (n=5±E.P).

5.2 Colonização micorrízica

Plantas do tratamento controle não apresentaram colonização micorrízica nos dois ciclos de déficit hídrico. Plantas com a presença de FMA (FMA e FMA+Seca) não diferiram entre si, tanto no ciclo 1 quanto no ciclo 2, apresentando uma porcentagem de colonização de 15,5% e 14,5, respectivamente.

Tabela 1. Porcentagem de colonização micorrízica de plantas jovens de *Cynophalla flexuosa* em dois ciclos de déficit hídrico, em casa de vegetação. (n=5±E.P).

Tratamentos	Colonização (%)
Controle	0 ^B
FMA	14±1,43 ^A
Seca	0 ^B
FMA+Seca	17±1,29 ^A
Ciclo 2	
Controle	0 ^B
FMA	12±2,29 ^A
Seca	0 ^B
FMA+Seca	17±2,51 ^A

*Letras diferentes em cada coluna indicam diferenças significativas entre os tratamentos em cada ciclo de déficit hídrico pelo teste de Student Newman Keuls (5%).

5.3 Trocas gasosas

Todos os parâmetros de trocas gasosas apresentaram uma redução nos tratamentos de deficiência hídrica comparado aos hidratados no ciclo 1, a partir do segundo dia de experimento.

Ao longo de todo experimento do ciclo 1, até o máximo estresse, plantas hidratadas (Controle e FMA) apresentaram as maiores taxas de g_s (Fig. 2A) e assimilação A (Fig. 2B) quando comparadas as plantas submetidas ao déficit hídrico (Seca e FMA+Seca). No ME a g_s , A e a EUA (Fig. 2C) foi superior nas plantas em condição hidratada, tendo as controles apresentado as maiores taxas de g_s , seguido de FMA. Na condição de

deficiência hídrica as plantas não diferiram entre si. Após a reidratação as plantas conseguiram recuperar suas taxas e se aproximar das plantas hidratadas.

No ciclo 2 houve uma queda acentuada nas taxas de g_s e A a partir do sexto dia de experimento nas plantas submetidas ao déficit hídrico, com menores reduções nos tratamentos de FMA+Seca. No ME, as plantas hidratadas apresentaram as maiores taxas de g_s e A . A eficiência no uso da água (EUA) foi maior nas plantas Controles, seguida das FMA, com menores taxas nas plantas de deficiência hídrica, as quais não diferiram entre si. Após a reidratação as plantas conseguiram recuperar suas taxas de trocas gasosas.

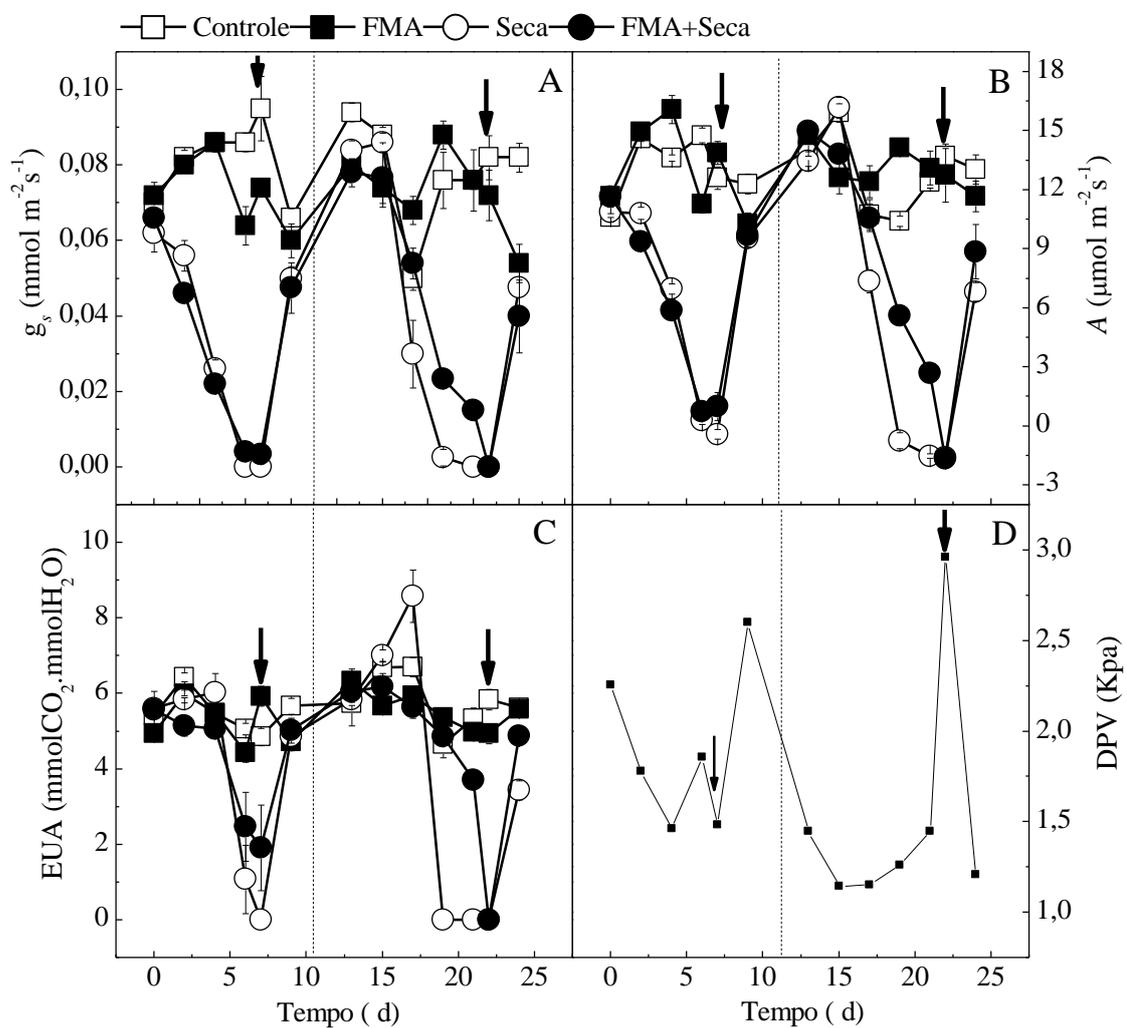


Figura 2- Trocas gasosas nas folhas de plantas jovens de *Cynophalla flexuosa* em dois ciclos de déficit hídrico com 4 tratamentos: controle, FMA, Seca e FMA+Seca, em casa de vegetação. A seta indica o máximo estresse e as linhas pontilhadas a divisão de um ciclo para o outro. Os parâmetros são: condutância estomática A- (g_s); B - taxa

fotossintética líquida (A); C - eficiência no uso da água (EUA) e D- Déficit pressão de vapor (DPV). (n=5±E.P).

5.3 Carboidratos solúveis totais

No máximo estresse do ciclo 1, plantas hidratadas (Controle e FMA) apresentaram as maiores taxas de carboidratos solúveis totais quando comparadas as plantas submetidas ao déficit hídrico (Fig. 3A). Após a reidratação, as plantas do tratamento FMA tiveram uma redução de 48% nas suas taxas de carboidratos comparadas as Controles (Fig. 3B). No máximo estresse do ciclo 2, as maiores concentrações de carboidratos foram encontradas nas plantas Controle e FMA+Seca, seguido das plantas de Seca que tiveram uma diminuição de 22% quando comparada as Controles (Fig. 3A). As menores concentrações foram encontradas nas plantas de FMA, tendo uma redução de 35% em relação ao Controle. Após a reidratação, as plantas Controles mantiveram as maiores concentrações de carboidratos, seguidas das plantas de FMA+Seca, Seca e FMA (Fig. 3B).

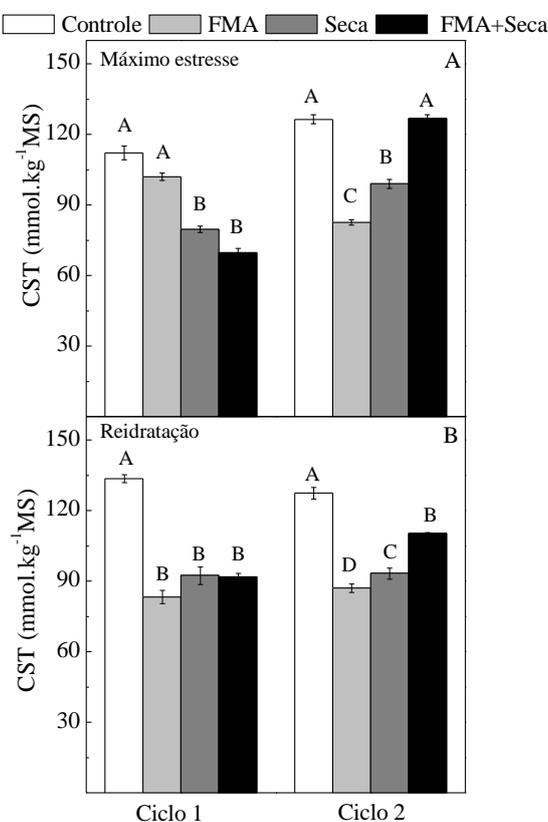


Figura 3- Carboidrato solúveis totais nas folhas de plantas jovens de *Cynophalla flexuosa* em dois ciclos de déficit hídrico com 4 tratamentos: controle, FMA, Seca e FMA+Seca, em casa de vegetação. Máximo estresse-A e Reidratação- B. (n=5±E.P).

5.4 Biomassa e área foliar específica (AFE)

No ciclo 1, não houve diferença significativa entre os tratamentos para a biomassa da parte aérea e subterrânea.. A área foliar específica foi maior nas plantas não micorrizadas (Controle e Seca) comparado as plantas micorrizadas (FMA e FMA+Seca) (Tabela 2).

No ciclo 2, as plantas micorrizadas (FMA e FMA+Seca) apresentaram os maiores valores de biomassa da parte aérea e subterrânea em relação aos demais tratamentos. Não houve diferença significativa entre a relação A/S. A AFE foi maior nas plantas de FMA+Seca, tendo um aumento de 15% em relação ao Controle, seguido das plantas Controles, Seca e tendo os menores valores de AFE nas de FMA (Tabela 2).

Tabela 2- Medidas de biomassa [parte subterrânea, aérea e razão P.A/P.S (aérea/subterrânea)-g], área foliar específica (area foliar/biomassa- AFE) em plantas jovens de *Cynophalla flexuosa* em dois ciclos de déficit hídrico com 4 tratamentos: Controle, FMA, Seca e FMA+Seca, em casa de vegetação (n=5±E.P).

Ciclo 1				
Tratamentos	Biomassa (g)			
	Aérea	Subterrânea	P.A/P.S	AFE
Controle	2,32±0,39 ND	2,70±0,16 ND	5,02±0,41 ^B	59,35±1,95 ^A
FMA	1,99±0,12	2,30±0,18	4,29±0,20 ^B	54,43±2,55 ^B
Seca	2,83±0,16	2,58±0,13	5,41±0,23 ^A	62,78±1,77 ^A
FMA+Seca	2,54±0,23	3,21±0,26	5,76±0,49 ^A	57,35±2,42 ^B
Ciclo 2				
Controle	2,16±0,14 ^B	2,52±0,35 ^B	4,69±0,45 ND	50,74±1,11 ^B
FMA	2,81±0,27 ^A	3,55±0,33 ^A	6,36±0,45	42,16±1,26 ^C
Seca	2,17±0,16 ^B	2,33±0,22 ^B	4,50±0,37	52,91±2,63 ^B
FMA+Seca	2,95±0,26 ^A	2,81±0,32 ^A	5,76±0,40	58,18±1,59 ^A

*Letras diferentes em cada coluna indicam diferenças significativas entre os tratamentos em cada ciclo de déficit hídrico pelo teste de Student Newman Keuls (5%).

5.5 Custo de construção foliar e EFUE

No ciclo 1, plantas do tratamento FMA apresentaram o maior custo de construção foliar, tendo um aumento de 28%; o menor CC foi encontrado nas plantas de Seca, tendo uma redução de 21% em relação ao controle (Fig.4A). Plantas de FMA apresentaram uma menor EFUE, tendo uma redução de 38% quando comparadas ao controle, enquanto os outros tratamentos não diferiram entre si (Fig.4B).

No ciclo 2, plantas Controles apresentaram os maiores valores de CC, seguido das plantas de Seca e FMA. O menor custo foi encontrado nas plantas de FMA+Seca, que tiveram uma redução de 44% em relação ao controle (Fig.4A). A menor taxa de EFUE foi encontrada nas plantas de Seca, tendo uma redução de 40% quando comparadas ao Controle, os outros tratamentos não diferiram entre si (Fig.4B).

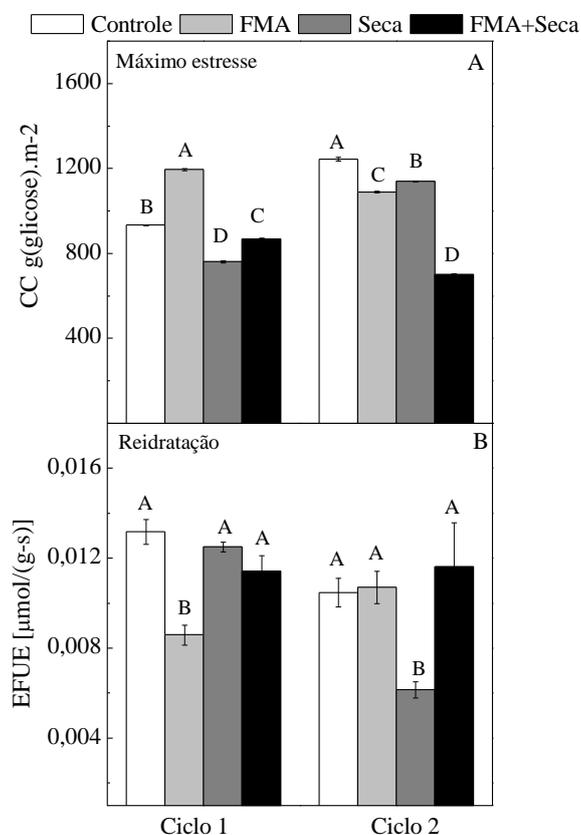


Figura 4- Custo de construção Foliar de plantas jovens de *Cynophalla flexuosa* em dois ciclos de déficit hídrico com 4 tratamentos: controle, FMA, Seca e FMA+Seca, em casa de vegetação. Os parâmetros são: Custo de construção foliar (CC) -A e eficiência fotossintética da utilização de energia (EFUE) - B. (n=5±E.P).

5.6 Nutrientes

No ciclo 1, apenas o P diferiu, onde plantas de FMA+Seca apresentaram as maiores concentrações desse nutriente na parte subterrânea, tendo um aumento de 79% em relação ao Controle. Os maiores valores da relação N:P da parte subterrânea foram encontrados nas plantas Controles e nas de FMA. As plantas controles também apresentaram a maior EFUN em relação aos demais tratamentos. Para as outras eficiências não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 3).

No ciclo 2, as maiores concentrações de N na parte aérea foram encontradas em plantas de Seca e FMA+Seca. Além de ter apresentado as maiores concentrações de N na parte aérea, plantas de FMA+Seca apresentaram também as maiores concentrações desse nutriente na parte subterrânea, com aumentos de 20% na parte aérea e de 41% na parte subterrânea, em relação ao Controle. As menores taxas de N foram encontradas nas plantas de FMA tanto na parte aérea como na subterrânea, tendo uma redução de 12% e 26%, respectivamente, comparados ao Controle. As maiores concentrações do K na parte aérea foi nas plantas de Seca, seguida das FMA+Seca, tendo um aumento de 49% e 24% respectivamente, comparados ao Controle. Plantas controles apresentaram a maior eficiência no uso de todos os nutrientes (EFUN, EFUP e EFUK), quando comparadas aos demais tratamentos. (Tabela 3).

Tabela 3- Medidas de nutrientes [parte subterrânea, aérea-g] e da eficiência no uso desses nutrientes em plantas jovens de *Cynophalla flexuosa*

Tratamentos	Ciclo 1										
	Nutrientes (g kg ⁻¹)								Eficiência (μmol C. mmol)		
	N		P		K ⁺		N:P		EFUN	EFUP	EFUK
	Aérea	Subterrânea	Aérea	Subterrânea	Aérea	Subterrânea	Aérea	Subterrânea			
Controle	19,16±1,99 ND	12,70±1,41 ND	0,39±0,03 ND	0,29±0,04 ^B	16,37±1,68 ND	6,24±1,44 ND	49,12±2,61 ND	43,79±2,71 ^A	0,05±0,008 ^A	5,89±0,629 ND	0,18±0,002 ND
FMA	22,58±1,08	13,7±2,72	0,46±0,04	0,36±0,02 ^B	18,04±0,94	5,80±0,97	49,08±3,60	38,05±0,99 ^A	0,03±0,001 ^B	3,87±0,390	0,12±0,008
Seca	24,6±0,31	13,02±3,26	0,44±0,02	0,36±0,03 ^B	16,28±1,46	7,04±0,60	55,90±2,72	36,16±2,05 ^B	0,03±0,001 ^B	4,26±0,273	0,14±0,012
FMA+Seca	20,5±1,66	13,92±2,23	0,41±0,05	0,52±0,03 ^A	15,13±1,25	5,94±1,07	50,00±2,14	26,76±2,60 ^B	0,04±0,004 ^B	4,65±0,890	0,14±0,013
Ciclo 2											
Controle	19,58±1,55 ^{AB}	13,74±0,95 ^{AB}	0,42±0,06 ND	0,35±0,04 ND	13,86±0,63 ^C	9,02±0,97 ND	46,61±4,09 ND	39,25±2,58 ND	0,04±0,003 ^A	5,13±0,584 ^A	0,18±0,007 ^A
FMA	17,26±0,89 ^B	10,17±0,47 ^C	0,43±0,03	0,40±0,03	14,63±0,97 ^C	5,28±0,56	40,13±2,78	25,42±1,54	0,03±0,001 ^A	3,63±0,404 ^B	0,12±0,013 ^B
Seca	23,24±1,06 ^A	13,66±1,24 ^{AB}	0,50±0,04	0,40±0,04	20,73±0,77 ^A	7,87±0,66	46,48±4,74	34,15±2,97	0,02±0,002 ^B	2,29±0,181 ^B	0,07±0,004 ^C
FMA+Seca	23,44±2,01 ^A	19,42±3,45 ^A	0,53±0,06	0,43±0,04	17,16±0,55 ^B	9,81±2,21	44,22±3,86	45,16±2,39	0,02±0,004 ^B	2,84±0,488 ^B	0,10±0,022 ^{BC}

em dois ciclos de déficit hídrico com 4 tratamentos: Controle, FMA, Seca e FMA+Seca, em casa de vegetação. (n=5±S.E.)

*Letras diferentes em cada coluna indicam diferença significativa entre os tratamentos em cada ciclo de déficit hídrico pelo teste de Student Newman keuls (5%).

6 DISCUSSÃO

Plantas associadas ao FMA apresentaram maior ganho de biomassa, maiores taxas fotossintéticas e maior ganho nutricional tanto na condição hidratada, como na condição de déficit hídrico principalmente no ciclo 2, dessa forma, o que foi hipotetizado inicialmente ao estudo se confirmou (plantas jovens de *C. flexuosa* quando micorrizada apresentarão maior tolerância quando expostas a deficiência hídrica recorrente).

Nossos dados demonstram que plantas sob as mesmas condições ambientais submetidas a um único ciclo de déficit hídrico chegaram ao máximo estresse (quando as trocas gasosas se aproximaram de zero) em 7 dias, enquanto as que foram submetidas a um segundo ciclo suportaram o déficit hídrico por 10 dias, indicando assim uma maior tolerância a esse estresse com respostas mais acentuadas para a maioria dos parâmetros mensurados. Comportamentos semelhantes foram encontrados em estudos como o de CONRATH et al., (2006) e RIVAS et al., (2012), demonstrando que as plantas de *C. flexuosa* tem a capacidade de memorizar um evento de estresse sofrido previamente e de responder de forma mais rápida diante de um estresse recorrente. Estudos recentes demonstraram que, quando uma planta é submetida à exposição prévia ao estresse, ela tem a capacidade de responder mais rapidamente e com mais vigor para um recorrente evento de estresse (WALTER et al., 2011).

Em termos de conteúdo hídrico, plantas associadas aos FMAs, tanto em condição hidratada quanto de déficit hídrico apresentaram os maiores conteúdos no dia do máximo estresse nos dois ciclos avaliados, com resposta mais acentuada no ciclo 2. Esse comportamento indica que a simbiose eficientemente ajudou a planta na absorção e retenção de água nas folhas e essa melhoria é obtida através das hifas fúngicas que conseguem explorar os menores poros do solo e assim obter esse recurso de forma mais eficiente (AUGÉ, 2004).

Esse maior conteúdo hídrico no ciclo 2 pode ter influenciado nas trocas gasosas nesse período, de forma mais acentuada que no primeiro ciclo. Plantas inoculadas e submetidas ao déficit hídrico (FMA+Seca) apresentaram uma menor redução da condutância estomática e da assimilação de CO₂, com uma maior eficiência do uso da água, quando comparadas as plantas de Seca. Trocas gasosa mais elevadas em plantas lenhosas inoculadas com FMA sob hidratação e seca foram encontradas também no estudo feito por LIU et al., (2015) e FROSI et al., (2016) com uma espécie nativa da

caatinga, *Poincianella pyramidalis*. A simbiose micorrízica pode promover mudanças no movimento da água das plantas hospedeiras, na taxa de fluxo de seiva e condutividade hidráulica da raiz (BÁRZANA et al., 2012), contribuindo assim para a maior fotossíntese. Além disso, QUEREJETA et al., (2007) relatam que plantas micorrizadas com FMA são mais eficientes quanto a fixação do CO₂ comparado às plantas não inoculadas, situação observada durante o nosso experimento tanto nas condições hidratadas e quanto de seca, refletindo em maiores taxas de crescimento, principalmente no ciclo 2, no tratamento de FMA+Seca.

Plantas associadas aos FMAs apresentaram um comportamento diferente sob hidratação e seca em relação ao custo de construção foliar e a EFUE. Plantas inoculadas e hidratadas (FMA) apresentaram uma baixa EFUE, que levou a um alto custo de construção foliar e a uma redução na área foliar. Uma possibilidade é que plantas com os custos de construção foliar alto pode investir os seus recursos em metabólitos de defesa, que são caros em termos de energia (WESTOBY et al., 2002). Dessa forma, produziram folhas menores como estratégia, a fim de reduzir o tempo necessário para recuperar os custos de construção da folha (POORTER et al., 2006).

As plantas de Seca apresentaram uma baixa EFUE em relação aos demais tratamentos, o que significa que estas plantas podem assimilar significativamente menos carbono por unidade de energia. Isso levará a planta a ter um menor investimento de energia na construção de uma nova folha, e assim tendo um maior investimento em estratégias para manter as folhas velhas (POORTER & BONGERS, 2006;. ZHU et al., 2013).

Essas diferenças no custo de construção podem também ser atribuídas à diferença na área foliar específica. Essa é uma característica funcional chave que pode permitir a compreensão dos comportamentos ecofisiológicos de plantas, pois influencia diretamente no uso da capacidade fotossintética e na eficiência no uso de recursos, tal como luz, água e nutrientes (SHIPLEY et al., 2005; NOUVELLON et al., 2010).

Plantas sob inoculação submetidas ao segundo ciclo, apresentaram ganhos de biomassa em ambos os tratamentos hídricos. As plantas sob FMA+Seca além de uma maior biomassa, apresentaram também uma maior área foliar específica em relação aos demais tratamentos. Em geral, a área foliar específica tende a ser mais elevada nas plantas onde o investimento no crescimento é mais importante do que o investimento em atributos que permitem a longo prazo persistência de plantas (ZHU et al., 2013).

Esse maior ganho de biomassa também está associado às maiores taxas fotossintéticas dessas plantas. As plantas que apresentam maiores áreas foliares específicas tendem a ter maior conteúdo de Nitrogênio na folha, como é o caso dessas plantas. Isso sugere que a maior parte da energia é utilizada para a síntese de proteínas, principalmente sob a forma de Rubisco, que contribui para taxas fotossintéticas mais elevadas (VILLAR FOTOSSINTÉTICOS & MERINO, 2001).

Além da disponibilidade de nutriente no solo, o estado de hidratação da planta é um fator chave na mobilização de nutrientes do solo para as folhas (DURAND et al., 2010). A seca afeta negativamente a aquisição, assimilação e alocação de nutrientes entre os órgãos da planta (GONZALEZ-DUGO et al., 2012), principalmente o fósforo que é um elemento de baixa mobilidade no solo. Em nosso estudo, plantas inoculadas submetidas ao déficit hídrico apresentaram maior concentração de fósforo nas raízes no ciclo 1, enquanto que no ciclo 2 obtiveram um maior acúmulo de nitrogênio tanto na parte aérea como na subterrânea e potássio na parte aérea das plantas. Como a mobilidade de nutriente é mais limitada sob condições de seca, o FMA atuou mais significativamente na absorção desses elementos, tendo assim um impacto mais significativo sobre o crescimento e desenvolvimento das plantas em relação as plantas hidratadas, aumentando a tolerância ao estresse hídrico (MATHUR & VYAS, 2000).

Estes resultados demonstram que o déficit hídrico recorrente aumentou a tolerância à seca em plantas de *C. flexuosa* e que a utilização do FMA é benéfica tanto na condição hidratada como em condições de déficit hídrico. O FMA nas plantas em condição hidratada promoveu um maior ganho de biomassa. Em condições de seca, as plantas micorrizadas apresentaram menores reduções nas taxas fotossintéticas, além de apresentarem ganhos em biomassa em relação aos demais tratamentos. Entretanto, essas plantas investiram em características menos custosas, como em uma maior área foliar específica, a qual está relacionada com maior área fotossintética. Dessa forma, os FMAs podem ser indicados como uma ferramenta para aumentar a tolerância de *C. flexuosa* sob condição de deficiência hídrica. Entretanto, as respostas mais proeminentes dos benefícios das micorrizas para a planta foram observadas no segundo ciclo de restrição hídrica. Esse fato aponta a importância de estudos com ciclos recorrentes, condição comum em ambientes semiáridos.

REFERÊNCIAS

ALAM, I. et al. Proteome analysis of soybean roots subjected to short-term drought stress. **Plant and Soil**, 333: 491-505, 2010.

AUGÉ, R.M. Arbuscular mycorrhizae and soil/plant water relations. **Can. J. Soil. Sci.** 84:373- 381. 2004.

BARRS, H.D., Weatherley, P.E., A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. **Aust. J. Biol. Sci.** 15, 413–428, 1962.

BÁRZANA, G. et al. Arbuscular mycorrhizal symbiosis increases relative apoplastic water flow in roots of the host plant under both well-watered and drought stress conditions. **Ann. Bot.** 109, 1009-1017, 2012.

BERBARA, R. L. L.; SOUZA, F. A. & FONSECA, H. M. A. C. Fungos Micorrízicos arbusculares: Muito além da nutrição. In : FERNANDES, M. S (ed). *Nutrição Mineral de Plantas . Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo.* p. 53–88, 2006.

BONFANTE, P., DESIRÒ, A. Arbuscular mycorrhizas: the lives of beneficial fungi and their plant host. In: B. Lugtenberg (ed). *Principles of Plant-Microbe Interactions. Springer International Publishing Switzerland, Heidelberg*, p. 235-245, 2005.

BRACHMANN, A.; M. Parniske, The most important symbiosis on earth. **PLoS Biol.** 4:239, 2006.

BRUCE, M.C. Metthes, J.A. Napier, J.A. Pickett, Stressful “memories” of plants: evidence and possible mechanisms, **Plant Sci.** 173, 2007.

CAMPBELL, C.D., Sage, R.F. Interactions between the effects of atmospheric CO₂ content and P nutrition on photosynthesis in white lupin (*Lupinus albus* L.). **Plant Cell. Environ.** 29, 844e853, 2006.

CHAVES, J. FLEXAS, C. PINHEIRO, Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell, **ANN BOT.** 103 551e560, 2009.

CHEN, X. et al. Arbuscular mycorrhizae enhance metal lead uptake and growth of host plants under a sand culture experiment. **Chemosphere**, v.60, p.665-671, 2005.

CONRATH, U. et al. Priming: getting ready for battle. **Molecular Plant-Microbe Interactions.** v. 19, p. 1062–1071, 2006.

DUBOIS, M., GILLES, K.A., HAMILTON, J.K., REDERS, P.A., Smith, F. colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Anal. Chem.** 28, 350e356, 1956.

DURAND, J.L., GONZALEZ-DUGO, V., GASTAL, F. How much do water deficits alter the nitrogen nutrition status of forage crops? **Nutr. Cycl. Agroecosyst.** 88, 231–243, 2010.

EVELIN, H.; KAPOOR, R.; GIRI, B. Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: a review. **Annals of Botany**, v.104, p.1263 – 1280, 2009.

FIGUEIREDO, K.A. et al. Epicuticular-wax removal influences gas exchange and water relations in the leaves of an exotic and native species from a Brazilian semiarid region under induced drought stress. **Australian Journal of Botany** 60: 685–692, 2012.

FIGUEIREDO, M.V. Utilização dos fenos de jureminha (*Desmanthus virgatus*), maniçoba (*Manihot glaziovii* Muell. Arg.) e feijão bravo (*Capparis flexuosa*) na alimentação de ovinos. Dissertação Mestrado. Areia: Universidade Federal da Paraíba, Areia, 82p, 2005.

FILHO et al. Impactos regionais, adaptação e vulnerabilidade ao clima e suas implicações para a sustentabilidade regional no Brasil. In: PBMC: Impactos, vulnerabilidades e adaptação às mudanças climáticas. Contribuição do Grupo de Trabalho 2 do Painel Brasileiro de Mudanças Climáticas ao Primeiro Relatório da Avaliação Nacional sobre Mudanças Climáticas [Assad, E.D., Magalhães, A. R. (eds.)]. COPPE. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, p. 335-419, 2014.

FLEXAS, J. et al. Understanding down-regulation of photosynthesis under water stress: future prospects and searching for physiological tools for irrigation management. **Annals of Applied Biology**, 144: 273-283, 2004.

FROSI, G. et al. Symbiosis with AMF and leaf Pi supply increases water deficit tolerance of woody species from seasonal dry tropical forest. **Journal of Plant Physiology (Print) JCR**, v. 207, p. 84-93, 2016.

GALLE, A. FLOREZ-SARASA I., Aououad H.E., Flexas J. The mediterranean evergreen *Quercus ilex* and the semi-deciduous *Cistus albidus* differ in their leaf gas exchange regulation and acclimatation to repeated drought and rewatering cycles, **J. Exp. Bot.** 62 5207e5216, 2011.

GERDEMANN, J.W., NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Trans. Br. Mycol. Soc.** 46, 235–244, 1963.

GIOVANNETTI, M., MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytol.** 84, 489–500, 1980

GONZALEZ-DUGO, V. et al. Restricted root-to-shoot translocation and decreased sink size are responsible for limited nitrogen uptake in three grass species under water deficit. *Environ. Exp. Bot.* 75, 258–267. 2012.

GROTKOPP E, REJMANEK M. High seedling relative growth rate and specific leaf area are traits of invasive species: Phylogenetically independent contrasts of woody angiosperms, 2007.

IPCC, 2014: **Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part B: Regional Aspects.** Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Barros, V.R., C.B. Field, D.J. Dokken, M.D. Mastrandrea, K.J. Mach, T.E. Bilir, M. Chatterjee, K.L. Ebi, Y.O. Estrada, R.C. Genova, B. Girma, E.S. Kissel, A.N. Levy, S. MacCracken, P.R. Mastrandrea, and L.L. White (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, pp. 688.

JENKINS, W.R., A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Dis. Rep.* 48, 692, 1964.

KASCHUK, G., et al. Are the rate of photosynthesis stimulated by the carbon sink strength of rhizobial and arbuscular mycorrhizal symbioses? *Soil Biology & Biochemistry.* v.41, p.1233–1244, 2009.

KUBIKOVA, E. et al. Mycorrhizal impact on osmotic adjustment in *Ocimum basilicum* during alethal drying episode. *Journal Plant Physiology.* v.158, p.1227–1230. 2001.

LEAL IR, SILVA JMC, TABARELLI M, Lacher Jr T Changing the course of biodiversity conservation in the Caatinga of northeastern Brazil. *Conservation Biology* 19: 701–706, 2005.

LEWIS, G. P; CORNEJO, X. *Cynophalla* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB105672>>. Acesso em: 10 Mai. 2015

LI, F., et al. Differences in leaf construction cost between alien and native mangrove species in Futian, Shenzhen, China: implications for invasiveness of alien species. *Mar. Pollut. Bull.* 62, 1957–1962. 2011.

LIMA, A.D. Plantas das Caatingas. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 243p. 1989.

LIU, C., WANG, Y., PAN, K., JIN, Y., LI, W., ZHANG, L., b. Effects of phosphorus application on photosynthetic carbon and nitrogen metabolism, water use efficiency and growth of dwarf bamboo (*Fargesia rufa*) subjected to water deficit. *Plant Physiol. Biochem.* 96, 20–28, 2015.

LIU, X.; HUANG, B. Photosynthetic acclimation to high temperatures associated with heat tolerance in creeping bentgrass. *Journal of Plant Physiology*, 165: 1947–1953, 2008.

MANAVALAN, L. P. et al. Physiological and molecular approaches to improve drought resistance in soybean. **Plant Cell Physiology**, 50: 1260-1276, 2009.

MARQUES DA SILVA, J.; ARRABAÇA, M. C. Contributions of soluble carbohydrates to the osmotic adjustment in the C4 grass *Setaria sphacelata*: A comparison between rapidly and slowly imposed water stress. **Journal of Plant Physiology**, 161: 551–555, 2004.

MATHUR,N.,VYAS, A. Influence of arbuscular mycorrhizae on biomass production, nutriente uptake and physiological Changes in *Ziziphus mauritana* Lam. Under water stress. **J. Arid Environ.**45, 191–195, 2000.

MICHALIS, O., IOANNIDES, I.M., EHALIOTIS, C., Mycorrhizal inoculation affects arbuscular mycorrhizal diversity in watermelon roots but leads to improved colonization and plant response under water stress only. **Appl. Soil Ecol.** 63, 112–119. 2013.

NAGEL J M, et al. Atmospheric CO2 enrichment alters energy assimilation, investment and allocation in *Xanthium strumarium*. **New Phytol**, 166 :513–523. 2005.

NAGEL JM, GRIFFIN KL. Construction cost and invasive potential: comparing *Lythrum salicaria* (Lythraceae) with co-occurring native species along pond banks. **American Journal of Botany** 88, 2252–2258. 2001.

NEUMANN, E.; SHMID, B.; RÖMHELD, V.; GEORGE, E. Extraradical development and contribution to plant performance of an arbuscular mycorrhizal symbiosis exposed to complete or partial rootzone drying. **Mycorrhiza**, v.20, p.13-23. 2009.

NOUVELLON, Y., et al. Within-stand and seasonal variations of specific leaf area in a clonal *Eucalyptus* plantation in the Republic of Congo. **Forest Ecol. Manage.** 259, 1796– 1807. 2010.

OLIVEIRA, A. F. M.; MEIRELLES, S. T.; SALATINO, A. Epicuticular waxes from Caatinga and Cerrado species and their efficiency against water loss. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 75: 431-439, 2003.

OSUNKOYA O O, BAYLISS D, PANETTA F D, VIVIAN-SMITH G. Leaf trait co-ordination in relation to construction cost, carbon gain and resource-use efficiency in exotic invasive and native woody vine species. **Ann Bot** , 106 :371–380. 2010.

PAGANO, M.C.et al. Intercropping system of tropical leguminous species and *Eucalyptus camaldulensis* , inoculated with rhizobia and/or mycorrhizal fungi in semiarid Brazil. **Agroforest. Syst.** 74,231–242. , 2008

PAGANO MC, Characterization of Glomalean mycorrhizal fungi and its benefits on plant growth in a semi-arid region of Minas Gerais (Jaíba Project), Brazil. **PhD thesis.** Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte. 2007.

PENNING DE VRIES, F.W.T., BRUNSTING, A.H.M., VAN LAAR, H.H., Products,requirements and efficiency of biosynthesis: a quantitative approach. **J. Theor.**

Biol. 45, 339–377. 1974.

PEREIRA, J. S.; CHAVES, M. M. Plant water deficits in Mediterranean ecosystems. In: SMITH, J. A. C.; GRIFFITHS, H. (Eds.) Plant responses to water deficits - from cell to community. **Oxford: BIOS Scientific**, Pp. 237–251, 1993.

POMPELLI, M. F. et al. Photosynthesis, photoprotection and antioxidant activity or purging nut under drought deficit and recovery. **Biomass and Bioenergy**, 34: 1207–1215, 2010.

POORTER, L., BONGERS, F. Leaf traits are good predictors of plant performance across 53 rain forest species. **Ecology** 87, 1733–1743. 2006.

POORTER, H., et al. Construction costs, chemical composition and payback time of high- and low-irradiance leaves. **J. Exp. Bot.** 57, 355–371. 2006.

PORCEL R.; BAREA J.M.; RUIZ-LOZANO J.M. Antioxidant activities in mycorrhizal soybean plants under drought stress and their possible relationship to the process of nodule senescence. **New Phytologist**. v.157, p.135–143. 2003.

QUEREJETA, J.I.; EGERTON-WARBURTON, L.M.; ALLEN M.F. Hydraulic lift may buffer rhizosphere hyphae against the negative effects of severe soil drying in a California Oak savanna. **Soil Biol Biochem** 39:409–417. 2007

RILLIG MC Arbuscular mycorrhizae, glomalin and soil quality. **Can J Soil Sci** 84:355–363. 2004.

RIVAS R, OLIVEIRA MT, SANTOS MG , Three cycles of water deficit from seed to young plants of *Moringa oleifera* woody species improves stress tolerance. **Plant Phys Bioch** 63:200-208., 2013.

RODRIGUES, B. M. et al. Water relations in physic nut according to climatic seasonality, in semiarid conditions. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 46: 1112-1115, 2011.

RUIZ-LOZANO, J. M., PORCEL R., AZCÓN, C., AROCA, R. Regulation by arbuscular mycorrhizae of the integrated physiological response to salinity in plants: new challenges in physiological and molecular studies. **Journal of Experimental Botany**, v.63, p.4033-4044, 2012.

SANTOS MG, et al. Caatinga, the Brazilian dry tropical forest: can it tolerate climate changes? **Theor Exp Plant Physiol** 26: 83-99. doi: 10.1007/s40626-014-0008-0, 2014.

SCHULZE, E. D. Carbon dioxide and water vapour exchange in response to drought in the atmosphere and in the soil. **Annual Review of Plant Physiology**, 37: 247–274, 1986.

SCHÜBLER, A., SCHWARZOTT, D. & WALKER, C..A new phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. **Mycological Research** 105:1413–1421, 2001.

SINGH V, SINGH H, SHARMA G P, RAGHUBANSHI A S. Ecophysiological performance of two invasive weed congeners (*Ageratum conyzoides* L. and *Ageratum houstonianum* Mill.) in the Indo-Gangetic plains of India. **Environ Monit Assess**, 178:415–422. 2011.

SHIPLEY, B., VILE, D., GARNIER, E., WRIGHT, I.J., POORTER, H., Functional linkages between leaf traits and net photosynthetic rate: reconciling empirical and mechanistic models. **Funct. Ecol.** 19, 602–615. 2005.

SHIPLEY B. Net assimilation rate, specific leaf area and leaf mass ratio: Which is most closely correlated with relative growth rate? A meta-analysis. **Funct Ecol**, 20: 565–574. 2006.

SIQUEIRA JO, LAMBAIS MR, STÜRMER SL. Fungos micorrízicos arbusculares: características, associação simbiótica e aplicação na agricultura. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento.** 25:12-21, 2002.

SMITH, S.E.; READ, D.J. Mycorrhizal symbiosis. 3.ed. London, **Academic Press**, 785p. 2008.

SONG L, NI G Y, CHEN B M, PENG S L. Energetic cost of leaf construction in the invasive weed *Mikania micrantha* H.B.K. and its co-occurring species: Implications for invasiveness. **Bot Stud**, 48: 331–338. 2007.

SOUZA, F.A.; SILVA, I.C.L. & BERBARA, R.L.L. Fungos micorrízicos arbusculares: muito mais diversos do que se imaginava. In: MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. & BRUSSARD, L., eds. **Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros**. Lavras, Universidade Federal de Lavras ,p.483-536 , 2008.

SOUZA, F.A.; STURMER, S.L.; CARRENHO, R. & TRUFEM, S.F.B. Classificação e taxonomia de fungos micorrízicos arbusculares e sua diversidade e ocorrência no Brasil. In: SIQUEIRA, J.O., ed. *Micorrizas 30 anos de pesquisa no Brasil*. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2010. p.1-14.

STADDON, P.L.; THOMPSON, K.; JAKOBSEN, I.; GRIME, J.P.; ASKEW, A.P. & FITTER, A.H. Mycorrhizal fungi abundance as affected by long-term climatic manipulations in the field. **Global Change Biol.**, 9:186194, 2003.

TCHABI, A., D. COYNE, F. HOUNTONDI, L.LAWOUIN, A. WIEMKEN & F. OEHL. Arbuscular mycorrhizal fungal communities in sub-Saharan Savannas of Benin, West Africa, as affected by agricultural land use intensity and ecological zone. **Mycorrhiza** 18:181- 195. 2008.

THOMAS, R.L., SHEARD, R.W., MOYER, J.R. Comparison of conventional and automated procedure for nitrogen, phosphorus and potassium analysis of plant material using single digest. *Agron. J.* 59, 240e243. .1967.

VANCE CP, UHDE-STONE C, ALLAN DL. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. **New Phytol** 2003;157:423–47.

VILLAR, R., MERINO, J., Comparison of leaf construction costs in woody species with differing leaf life-spans in contrasting ecosystems. **New Phytol.** 151, 213–226.<http://dx.doi.org/10.1046/j.1469-8137.2001.00147.x>. 2001.

VILLAR R, ROBLETO JR, DEJONG Y, POORTER H. Differences in construction costs and chemical composition between deciduous and evergreen woody species are small as compared to differences among families. **Plant, Cell and Environment** 29, 1629–1643. 2006.

ZANGARO W. et al. Root mycorrhizal colonization and plant responsiveness are related to root plasticity, soil fertility and successional status of native woody species in southern Brazil. **Journal of Tropical Ecology.** v.23, p.53. 2007

ZHENG Y L, FENG Y L, LIU W X, LIAO Z Y. Growth, biomass allocation, morphology, and photosynthesis of invasive *Eupatorium adenophorum* and its native congeners grown at four irradiances. **Plant Ecol**,203 : 263–271. 2009.

ZHU, S.D., Plant hydraulics and photosynthesis of 34 woody species from different successional stages of subtropical forests. **Plant Cell Environ.** 36, 879–891.2013.

WALTER, L. Do plants remember drought? Hints towards a drought memory in grasses, **Environ. Exp. Bot.** 71 , 2011.

WANG, W. X. et al. Biotechnology of plant osmotic stress tolerance: physiological and molecular consideration. **Acta Horticulturae**, 560: 285-292, 2001.

WESTOBY, M. et al Plant ecological strategies: some leading dimensions of variation between species. **Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.** 33, 125–159.

WILLIAMS, K., PERCIVAL, F., MERINO, J., MOONEY, H.A., Estimation of tissue construction cost from heat of combustion and organic nitrogen content. **Plant, Cell Environ.** 10, 725–734. 1987.

