

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO –
IF GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS -
AGRONOMIA

FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES ASSOCIADOS COM
PLANTAS DE MILHO: UMA ESTRATÉGIA BIOTECNOLÓGICA
DURANTE A SECA

Autora: Letícia Rezende Santana
Orientador: Prof. Dr. Edson Luiz Souchie
Coorientadora: Dr. Juliana Silva Rodrigues Cabral

RIO VERDE - GO
AGOSTO – 2021

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO –
IF GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS -
AGRONOMIA

FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES ASSOCIADOS COM
PLANTAS DE MILHO: UMA ESTRATÉGIA BIOTECNOLÓGICA
DURANTE A SECA

Autora: Letícia Rezende Santana
Orientador: Prof. Dr. Edson Luiz Souchie
Coorientadora: Dr. Juliana Silva Rodrigues Cabral

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS - AGRONOMIA, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - Agronomia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde - Área de concentração Produção Vegetal Sustentável no Cerrado.

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

SSA232 Santana, Letícia Rezende
f FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES ASSOCIADOS COM
 PLANTAS DE MILHO: UMA ESTRATÉGIA BIOTECNOLÓGICA
 DURANTE A SECA / Letícia Rezende Santana; orientador
 Edson Luiz Souchie; co-orientadora Juliana Silva
 Rodrigues Cabral. -- Rio Verde, 2021.
 58 p.

Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) --
Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2021.

1. Rhizophagus clarus. 2. Claroideoglomus
etunicatum. 3. respostas bioquímicas. 4. respostas
fisiológicas. I. Souchie, Edson Luiz, orient. II.
Silva Rodrigues Cabral, Juliana, co-orient. III.
Título.

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese | <input type="checkbox"/> Artigo Científico |
| <input checked="" type="checkbox"/> Dissertação | <input type="checkbox"/> Capítulo de Livro |
| <input type="checkbox"/> Monografia – Especialização | <input type="checkbox"/> Livro |
| <input type="checkbox"/> TCC - Graduação | <input type="checkbox"/> Trabalho Apresentado em Evento |
| <input type="checkbox"/> Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____ | |

Nome Completo do Autor: Letícia Rezende Santana

Matrícula: 2019202310140062

Título do Trabalho: FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES ASSOCIADOS COM PLANTAS DE MILHO: UMA ESTRATÉGIA BIOTECNOLÓGICA DURANTE A SECA

Restrições de Acesso ao Documento

Documento confidencial: Não Sim, justifique: _____

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 27/10/2021

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Rio Verde – Go, 25/10/2021

Letícia Rezende Santana

Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:

[Assinatura]

Assinatura do(a) orientador(a)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Documentos 89/2021 - NREPG-RV/CPG-RV/DPGPI-RV/CMPRV/IFGOIANO

**FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES ASSOCIADOS COM PLANTAS DE MILHO: UMA
ESTRATÉGIA BIOTECNOLÓGICA DURANTE A SECA**

Autora: Letícia Rezende Santana
Orientador: Dr. Edson Luiz Souchie

TITULAÇÃO: Mestre em Ciências Agrárias - Agronomia, Área de Concentração em
Produção Vegetal Sustentável no Cerrado

APROVADA em 27 de agosto de 2021.

Prof. Dr. Edson Luiz Souchie (Presidente)
Prof.^a Dra. Priscila Ferreira Batista (Avaliadora interna)
Prof.^a Dra. Juliana Silva Rodrigues Cabral (Avaliadora externa)
Prof.^a Dra. Juliana de Fátima Sales (Avaliadora interna)

Documento assinado eletronicamente por:

- Juliana de Fatima Sales, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 30/08/2021 09:42:26.
- Juliana Silva Rodrigues Cabral, Juliana Silva Rodrigues Cabral - Professor Avaliador de Banca - Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde (10651417000500), em 30/08/2021 09:21:25.
- Priscila Ferreira Batista, 2021102310840182 - Discente, em 27/08/2021 21:34:58.
- Edson Luiz Souchie, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 27/08/2021 10:55:56.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 26/08/2021. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 303262
Código de Autenticação: 928e869327



INSTITUTO FEDERAL GOIANO
Campus Rio Verde
Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, None, RIO VERDE / GO, CEP 75901-970
(64) 3620-5600

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades e chegar até aqui;

A minha mãe Eliane, heroína que me deu apoio, incentivo nas horas difíceis, de desânimo e cansaço;

Ao meu pai Helcio, que apesar de todas as dificuldades me fortaleceu e que foi muito importante para mim;

Aos meus colegas, que contribuíram para a realização e finalização deste trabalho, em especial, Germanna e Laís;

Ao meu orientador Dr. Edson Luiz e minha coorientadora Dra. Juliana Cabral, pelos ensinamentos e conselhos e por proporcionar conhecimento dedicando seu tempo me orientando;

Ao Laboratório de Ecofisiologia e Produtividade Vegetal, Laboratório de Microbiologia e Laboratório de Sementes, por cederem suas estruturas para execução deste trabalho;

Ao Instituto Federal Goiano, por me proporcionar um ambiente criativo e amigável para os estudos. Sou grata a cada membro do corpo docente, à direção e a administração desta instituição de ensino;

A CAPES, pela concessão de bolsa;

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigada!

BIOGRAFIA DA AUTORA

Letícia Rezende Santana, 24 anos, nascida no dia 02 de dezembro de 1996 em Barreiras – BA, filha de Eliane Santana Silva e Helcio Rezende da Silva. Estudou do ensino fundamental até o ensino médio em escola pública. Em 2014, ingressou no curso de Bacharelado em Agronomia no Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, concluindo-o em 2018. Em 2019, ingressou no Mestrado em Ciências Agrárias – Agronomia, na mesma instituição, concluindo em agosto de 2021.

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS	iv
BIOGRAFIA DA AUTORA	vii
ÍNDICE GERAL.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE MATERIAL SUPLEMENTAR.....	xi
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS	xii
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
1. INTRODUÇÃO GERAL	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1. Mudanças climáticas – Déficit hídrico.....	18
2.2. Impacto na agricultura	19
2.3. Alternativa para redução dos efeitos do déficit hídrico	21
3. OBJETIVOS.....	24
3.1 Geral.....	24
3.2 Específicos	25
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
CAPÍTULO I: RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE PLANTAS DE MILHO (<i>Zea mays</i> L.) INOCULADAS COM FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES SOB DÉFICIT HÍDRICO.....	32
RESUMO.....	32
1. INTRODUÇÃO.....	34
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	35
2.1 Multiplicação e inoculação dos FMA	35
2.2 Condições de crescimento das plantas	36
2.3 Indução do estresse hídrico em plantas de milho.....	36
2.4 Medição do potencial hídrico.....	37
2.5 Medições fisiológicas.....	37

2.6	Medições de Fluorescência da Clorofila <i>a</i>	37
2.7	Características Morfológicas.....	38
2.8	Determinação do conteúdo de clorofila	38
2.9	Observação de associação entre fungos e raízes de milho.....	38
2.10	Densidade de esporos	38
2.11	Vazamento eletrolítico	39
2.12	Análise estatística.....	39
3.	RESULTADOS	39
4.	DISCUSSÃO	49
5.	CONCLUSÕES	52
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
7.	MATERIAL SUPLEMENTAR	58

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO I: RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE PLANTAS DE MILHO (*Zea mays* L.) INOCULADAS COM FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES SOB DÉFICIT HÍDRICO.

Figura 1: Potencial hídrico (A), densidade de esporos (B) e colonização micorrizica (C) de plantas de milho (*Zea mays*) submetidas a diferentes tratamentos hídricos e inoculação com FMA, após reirrigação.....40

Figura 2: Taxa fotossintética (A), condutância estomática (B), transpiração (C) e concentração interna e externa de CO₂ (D) de plantas de milho (*Zea mays*) submetidas a diferentes tratamentos hídricos e inoculação com FMA, após reirrigação.....42

Figura 3: Transporte de elétrons [ETR] (A), rendimento quântico máximo de FS II [Fv/Fm] (B), eficiência fotoquímica efetiva do fotossistema II [PhiPS2] (C) e coeficiente de extinção não fotoquímico [NPQ] (D) de plantas de Milho (*Zea mays*) submetidas a diferentes tratamentos hídricos e inoculação com Fungos Micorrízicos Arbusculares, no período de restrição hídrica.....44

Figura 4: Teores de clorofila *a* (A), Cl_a/Cl_b (B), clorofilas totais (C) e carotenoides (D) de plantas de milho (*Zea mays*) submetidas a diferentes tratamentos hídricos e inoculação com FMA, após reirrigação.....46

Figura 5: Altura (A), diâmetro (B), peso seco de folhas (C), peso seco de raiz (D) e peso seco total (E) de plantas de milho (*Zea mays*) submetidas a diferentes tratamentos hídricos, após reirrigação.....48

ÍNDICE DE MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela 1S. Análise de solo (0-20 cm) antes da instalação do experimento.....	58
---	----

LISTA DE SIMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

FMA	Fungo micorrízico arbuscular	
A	Fotossíntese	$\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
G_s	Condutância estomática	$\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
Ci	Concentração interna de CO ₂	
Ca	Concentração ambiente de CO ₂	
E	Taxa transpiratória	$\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
Fm	Fluorescência máxima da clorofila	
%	Porcentagem	
Fv/Fm	Rendimento quântico máximo de FSII	
PhiPS2	Eficiência fotoquímica efetiva do FSII	
ETR	Transporte de elétrons	
NPQ	Coeficiente de extinção não fotoquímico	
qP	Grau de fechamento do centro de reação	
qN	Coeficiente de extinção não fotoquímico	
Cl _a	Clorofila <i>a</i>	
Cl _b	Clorofila <i>b</i>	
Cl _t	Clorofilas totais	
G	Gramas	
ml	Mililitro	
cm	Centímetro	
mM	milimolar	
Mmol	Milimol	
Cl <i>a</i>	Clorofila <i>a</i>	
Cl <i>b</i>	Clorofila <i>b</i>	
FSII	Fotossistema II	
DH	Déficit hídrico	

RESUMO

SANTANA, L. R. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, agosto de 2021.
Fungos micorrízicos arbusculares associados com plantas de milho: uma estratégia biotecnológica durante a seca. Orientador: Edson Luiz Souchie.

As plantas estão submetidas a diversas condições e estresses, dentre esses estresses, destaca-se o déficit hídrico, principal fator limitante da produção do milho que ocasiona mudanças fisiológicas, bioquímicas e moleculares nas plantas. Uma das alternativas para que as plantas consigam se sobressair a esse estresse é a utilização dos fungos micorrízicos arbusculares (FMA) que fazem simbiose com as plantas, colaborando para que estas consigam captar mais nutrientes e água, através de uma rede de hifas que são produzidas pelos esporos. Diante do exposto, com este trabalho, objetivou-se verificar o comportamento fisiológico das plantas de milho sob déficit hídrico, inoculadas com os FMA *Rhizophagus clarus*, *Claroideoglossum etunicatum* e inoculante comercial Rootella BR®. Sementes do milho foram cultivadas e inoculadas com 90 g do *R. clarus*, pois o número de esporos por grama foi de 1,2, 30g do *C. etunicatum*, separadamente, pois o número de esporos por grama foi de 3,6 e inoculadas com o inoculante comercial Rootella, na proporção de 120g por hectare. A diferença na quantidade dos inoculantes *R. clarus* e *C. etunicatum* foi para igualar o total de esporos por vaso (108 esporos). As plantas foram cultivadas em casa de vegetação e distribuídas nos tratamentos: 1) Milho sem inoculação (controle) com irrigação; 2) Milho sem inoculação (controle) sem irrigação; 3) Milho + *Rhizophagus clarus* irrigado; 4) Milho + *Rhizophagus clarus* sob déficit; 5) Milho + *Claroideoglossum etunicatum* irrigado e 6) Milho + *Claroideoglossum etunicatum* sob déficit, 7) Milho + Rootella irrigado e 8) Milho + Rootella sob déficit. As plantas foram submetidas ao déficit hídrico no estágio V3, mantendo os vasos em 20% da CC, por 10 dias, e as primeiras análises foram feitas, em seguida foram reirrigadas por 2 dias e as análises serão feitas novamente. Os resultados mostram que plantas inoculadas conseguiram se recuperar de maneira favorável. Esses dados demonstram que os FMA não auxiliam apenas no momento do estresse, a colaboração também pode vir como auxílio para recuperação das plantas, após um novo período de irrigação. Sendo assim, a inoculação com os FMA favorece as plantas na recuperação pós-estresse hídrico.

Palavras-chave: *Rhizophagus clarus*, *Claroideoglossum etunicatum*, respostas bioquímicas, respostas fisiológicas.

ABSTRACT

SANTANA, L. R. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, August 2021. **Arbuscular mycorrhizal fungi associated with maize plants: a biotechnological strategy during the drought.** Advisor: Edson Luiz Souchie.

Plants are subjected to various conditions and stresses, among these the water deficit stands out, as the main limiting factor in corn production that causes physiological, biochemical and molecular changes in plants. One of the alternatives for plants to be able to stand out from this stress is the use of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) which make symbiosis with plants, helping them to capture more nutrients and water, through a network of hyphae that are generated by the spores. Given the above, this work aimed to verify the physiological behavior of maize plants under water deficit, inoculated with AMF *Rhizophagus clarus*, *Claroideoglossum etunicatum* and the commercial inoculant Rootella BR®. Corn seeds were cultivated and individually inoculated with 90 g of *R. clarus*, with number of spores per gram of 1.2, or 30 g of *C. etunicatum*, with number of spores per gram of 3.6, and with the commercial inoculant Rootella, in the proportion of 120g per hectare. The difference in the amount of inoculants *R. clarus* and *C. etunicatum* was to equal the total number of spores per pot (108 spores). The plants were cultivated in a greenhouse and distributed in the treatments: 1) Corn without inoculant (control) with irrigation; 2) Corn without inoculation (control) without irrigation; 3) Irrigated corn irrigated + *Rhizophagus clarus*; 4) Corn with water deficit + *Rhizophagus clarus*; 5) Irrigated Corn + *Claroideoglossum etunicatum* and 6) corn + with water deficit + *Claroideoglossum etunicatum*; 7) Irrigated corn + Rootella and 8) corn with water deficit + Rootella. The plants were subjected to water deficit at stage V3, keeping the pots at 20% of CC, for 10 days, then the first analyzes were performed, after that they were re-irrigated for 2 days and the analyzes were performed again. The results showed that inoculated plants were able to recover in favorably way. These data demonstrate that the AMF not only help at the time of stress, but a collaboration can also come as an aid for plant recovery, after a new irrigation period. Thus, inoculation with AMF favors the plants in post-water stress recovery.

Keywords: *Rhizophagus clarus*, *Claroideoglossum etunicatum*, biochemical responses, physiological responses.

1. INTRODUÇÃO GERAL

As mudanças climáticas observadas nos últimos anos e previstas, provavelmente trarão modificações no ciclo hidrológico afetando diretamente o desenvolvimento das culturas (VÁRALLYAY, 2010). Dentre estas alterações no clima é esperado que eventos extremos, como longos períodos de seca, tornem-se mais frequentes nos próximos anos (IPCC, 2014), sendo este um dos principais fatores que ocasionam redução na produção do milho, prejudicando o crescimento e desenvolvimento desta cultura.

O milho tem alto consumo de água para suprir suas necessidades fisiológicas através dos nutrientes que são transportados junto com a água, sob forma de fluxo de massa, quando se encontra em situação de déficit hídrico, ocorre redução da fixação de carbono no aparato fotossintético (ELDAKAK et al., 2013), mudanças na expressão gênica, ocasionando respostas fisiológicas como redução da área foliar, fechamento estomático levando a baixa condutância estomática e, conseqüentemente, redução da fotossíntese, interferindo em diversos outros processos do desenvolvimento da planta (MINUZZI e LOPES, 2015). Outro risco para as plantas no período de restrição hídrica é o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio responsáveis pelo estresse oxidativo, fazendo com que a planta invista na produção de enzimas antioxidantes como defesa aos radicais livres (LISAR, et al., 2012) e, conseqüentemente, reduzindo a produtividade deste cereal.

Esta espécie tem sensibilidade à restrição hídrica, principalmente nas fases vegetativa, de pré-floração/floração e enchimento dos grãos. No período reprodutivo também há sensibilidade considerável pelos processos fisiológicos relacionados a formação de zigotos e início do enchimento dos grãos (BERGAMASCHI e MATZENAUER, 2014). O déficit hídrico no milho causa atraso no surgimento de estigmas, aumentando o intervalo entre a floração masculina e feminina, e a porcentagem de zigotos abortados após a fertilização (BERNINI et al., 2016).

A disponibilidade de água é importante para o desenvolvimento do milho no estágio V3 (três folhas totalmente desenvolvidas), pois neste as folhas e espigas que a planta eventualmente produzirá estão sendo formadas (MAHANNA et al. 2014). Pode-se dizer, portanto, que o estabelecimento do número máximo de grãos, ou a definição da produção potencial, estão sendo definidos neste estágio.

A região Centro-Oeste é destaque na produção deste grão para diversos fins, como indústria na produção de alimentos como canjica, fubá e farinha de milho, por se tratar de

importante fonte energética para o homem na produção de ração animal e etanol. A utilização do milho na fabricação de etanol explica o aumento da produção do grão no Brasil (CONAB, 2019). No município de Rio Verde - GO, o milho safrinha pode ter perdas devido as condições climáticas. De acordo com o departamento técnico da Cooperativa Agroindustrial dos Produtores Rurais do Sudoeste Goiano (Comigo) a perda prevista das lavouras chega a 30% para safra 2021. O plantio do grão se estendeu até 15 de março de 2021 na região, fora da janela ideal de cultivo, contribuindo para dificuldades no desenvolvimento da cultura (CANAL RURAL, 2021).

Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), a integração das três safras registrou a produção de 93,4 milhões de toneladas, 9% a menos que a safra anterior (2019/20). Este ajuste se deve à projeção de que a produção de milho na segunda safra diminuirá 18,4% e a produção de milho na terceira safra reduzirá 6,9% e este novo arranjo se deve principalmente às condições climáticas adversas da safra atual, que levaram a redução na produção total de milho (CONAB, 2021).

No estado de Goiás, a colheita do milho primeira safra atingiu 95% e foi favorecida com a estiagem que ocorreu em maio de 2021, dando aos grãos boa qualidade. Em relação ao milho segunda safra, as precipitações que ocorreram na segunda quinzena de junho de 2021 beneficiaram as lavouras que se encontravam em fase de enchimento dos grãos, porém não foi suficiente para retroceder a queda na produtividade. O plantio de híbridos mais resistentes a déficit hídrico e utilização de tratamentos com produtos biológicos que favoreçam melhor enraizamento, aliados a boas práticas culturais, têm possibilitado que parte dos produtores tenham boas produtividades (CONAB, 2021).

Com isto, a utilização de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) pode se tornar alternativa para aumento da tolerância do milho ao déficit hídrico. Estes micro-organismos, através de uma das interações mais benéficas conhecida como simbiose que ocorre no solo (SMITH e SMITH, 2011), associam-se com as raízes das plantas, aumentando a área do sistema radicular, absorção de água e nutrientes e desempenha papel importante na produção de culturas, absorção e renovação de nutrientes (ANDRADE, 2004).

Esta simbiose pode atuar como estratégia para a planta suportar situações bióticas e abióticas adversas (PICCOLI et al., 2011), isso porque os FMA conseguem explorar maior volume de solo por causa do comprimento de suas hifas, colaborando para que a captação de água e nutrientes seja maior (WANG e QIU, 2006). As raízes são as primeiras a serem afetadas pelo déficit hídrico, e, é através de suas células corticais que os FMA

penetram. Estruturas são formadas como os arbúsculos, estruturas ramificadas com acúmulo de lipídeo e glicogênio e as vesículas, estrutura que acredita ser de reserva e que, possivelmente atuam como propágulo (SMITH e SMITH, 2011). Estes micro-organismos adquirem carboidrato/carbono fotossintético das raízes das plantas hospedeiras e em troca fornecem nutrientes do solo para as plantas (MATHUR et al., 2018).

Além disso, a associação micorrízica aumenta os nutrientes que as plantas absorvem do solo, principalmente o fósforo, e faz melhor uso dos fertilizantes de fósforo, especialmente em solos de baixa fertilidade. As micorrizas não podem substituir os fertilizantes fosfatados, mas melhoram a eficiência da planta no uso do fósforo natural disponível ou do fósforo adicionado ao solo por meio da fertilização (MIRANDA, 2012).

O fósforo está presente em todas as células vivas na forma de biomoléculas, como proteínas quinase, ácido nucleico, trifosfato de adenina (ATP) e lipídios das membranas celulares. Na nutrição vegetal é um macronutriente muito requerido pelas plantas porque participam de importantes processos celulares vegetais: metabolismo energético, transdução de sinal e fotossíntese (BARRA et al., 2018).

A absorção direta do fósforo pelas raízes das plantas é realizada, principalmente por meio de um processo que depende da difusão do fósforo no solo, que ocorre em ritmo muito lento para atender as necessidades das plantas. Neste caso, a contribuição do micélio dos FMA é notável, que consiste em um grupo de hifas que cresce fora da zona de depleção da raiz, explora grandes volumes de solo e tem alta afinidade por íons fosfato (JORHI et al., 2015; ZOU et al., 2019).

O uso de fungos micorrízicos arbusculares na agricultura tem sido considerado uma alternativa para reduzir o uso de insumos (como corretivos e fertilizantes), pois é benéfico para o crescimento de plantas nas áreas de agronomia, silvicultura, horticultura e pastagem. Em geral, a comunidade de fungos micorrízicos arbusculares no solo é considerada um dos fatores mais importantes para a manutenção da biodiversidade e das funções do ecossistema por sua diversidade e multiplicidade de espécies. Portanto, é necessário protegê-la e incorporá-la em futuras práticas de gestão para manter os vários ecossistemas agrícolas e garantir a produtividade agrícola (MIRANDA, 2012).

Diante do exposto, torna-se importante a implantação de estudos que verifiquem o potencial dos FMA em associação com plantas que se encontram em estresse no aumento da tolerância ao déficit hídrico. Assim, com este trabalho, objetivou-se verificar o comportamento fisiológico das plantas de milho sob déficit hídrico, inoculadas com os

FMA *Rhizophagus clarus*, *Claroideoglossum etunicatum* e inoculante comercial Rootella BR®.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Mudanças climáticas – Déficit hídrico

Um dos fatores que podem diminuir a produtividade de lavouras são as condições anormais dos componentes químicos e físicos do meio, conhecidos como estresses abióticos. Dentre estas alterações no clima, é esperado que eventos extremos, como longos períodos de seca se tornem mais frequentes nos próximos anos (IPCC, 2014), sendo este um dos principais fatores que ocasionam redução na produção do milho, prejudicando o crescimento e desenvolvimento desta cultura. A seca é uma limitação que gera grande desafio para a alimentação mundial que sofre com a intervenção direta do aumento da população e o aquecimento global (BERNINI et al., 2020).

Nas plantas, o gradiente de pressão formado entre as folhas e a atmosfera é o que ocasiona perda de água. Este processo é influenciado diretamente pela disponibilidade hídrica do solo. Portanto, à medida que o teor de água no solo diminui, a absorção de água pelas raízes se torna mais difícil (JÚNIOR, et al., 2019).

O déficit hídrico da planta se aprimora quando a sua procura ultrapassa a oferta de água. O fornecimento é determinado pela quantidade de água contida no solo até a profundidade do sistema radicular das culturas. A demanda por água é caracterizada pela taxa de transpiração das plantas ou evapotranspiração da cultura, que inclui a transpiração das plantas e evaporação do solo. Evapotranspiração é impulsionada pelo ambiente de cultivo, bem como condições principais das culturas, como a arquitetura da planta, área foliar e desenvolvimento da planta (BLUM, 2016).

Quando as plantas se encontram sob déficit hídrico ocorre redução da fixação de carbono no aparato fotossintético (ELDAKAK et al., 2013), mudanças na expressão gênica, ocasionando respostas fisiológicas como redução da área foliar, fechamento estomático levando a baixa condutância estomática e, conseqüentemente, redução da fotossíntese, interferindo em diversos outros processos do desenvolvimento da planta (MINUZZI e LOPES, 2015). Outro risco para as plantas no período de restrição hídrica é o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio responsáveis pelo estresse oxidativo, fazendo com que a planta invista na produção de enzimas antioxidantes como defesa aos radicais livres (LISAR, et al., 2012).

Raízes maiores e mais jovens, que apresentem maior quantidade de raízes secundárias são indispensáveis para aumentar a superfície de contato das plantas, melhorando a capacidade de absorção de água presente no solo. Além disso, a disposição e proporção das raízes é importante para atender a demanda de água de uma planta (CHAVARRIA e SANTOS, 2012).

O milho tem alta demanda por água, necessitando de 250 a 500 mm de água por ciclo e, portanto, tem grande sensibilidade à restrição hídrica, principalmente no período crítico que se inicia na fase de pré-floração/floração e vai até o enchimento dos grãos (HERNÁNDEZ et al., 2015). No período reprodutivo também há sensibilidade pelos processos fisiológicos relacionados a formação de zigotos e início do enchimento dos grãos (BERGAMASCHI e MATZENAUER, 2014). Wu et al. (2016) estudaram o crescimento e a transpiração do milho sob estresse hídrico em casa de vegetação. Os autores observaram que quando a umidade do recipiente era inferior a 90%, a formação de fitomassa e a transpiração eram reduzidas em 28%.

O estresse hídrico no milho causa atraso no surgimento de estigmas, aumentando o intervalo entre a floração masculina e feminina, da porcentagem de zigotos abortados após a fertilização (BERNINI et al., 2016). Além disso, a altura e diâmetro do colmo das plantas é afetada, ocorrendo a redução da fotossíntese motivada pela diminuição da expansão celular e por danos causados no aparato fotossintético (GUIMARÃES, et al., 2019).

2.2. Impacto na agricultura

O Brasil é um importante abastecedor de alimentos para o mundo. Dono de diferentes paisagens e clima, oferecendo oportunidade de cultivos para uma variedade de produtos agrícolas, o país se tornou muito importante na produção global de alimentos, produzindo e exportando commodities agrícolas (ARTUZO, et al., 2019). Um dos fatores que podem diminuir a produtividade de lavouras são as condições anormais dos componentes químicos e físicos do meio, conhecidos como estresses abióticos. Estes estresses não afetam somente produtores, mas também toda a sociedade, ocasionando desempregos, aumento no preço dos alimentos e instabilidade no mercado (BIANCHI, et al., 2016).

As mudanças climáticas observadas nos últimos anos e previstas, provavelmente trarão modificações no ciclo hidrológico afetando diretamente o desenvolvimento das

culturas (VÁRALLYAY, 2010). O déficit hídrico afeta aproximadamente 45% das áreas agrícolas, sendo o que mais ocasiona restrição global de produtividade, tornando grande problema, pois é o que mais contribui para a diminuição do crescimento das plantas (MADABULA et al., 2016).

Apesar de as plantas estarem sujeitas a diversos estresses abióticos, a seca se destaca por ser comum e por ocasionar disfunções nas plantas, podendo ser redução do turgor celular, essencial nos processos metabólicos, ou através de alterações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas, refletindo sobre o transporte e absorção de água e nutrientes por elas (MONTEIRO et al., 2014). A seca é uma limitação que gera grande desafio para a alimentação mundial que sofre com a intervenção direta do aumento da população e o aquecimento global (BERNINI et al., 2020).

Wheeler e Von Braun (2013) explicam que o crescimento populacional do planeta necessitará de aumento de 50% de produtos agrícolas até o ano de 2030. A redução da água disponível e a distribuição irregular das chuvas, que costumam coincidir com o período crítico das lavouras em diferentes regiões do país, são as principais variáveis meteorológicas que determinam as oscilações na produtividade de grandes culturas (BARBOSA et al., 2020).

Dentre as principais commodities produzidas no Brasil, destaca-se o milho. Segundo grão mais produzido no país, ficando atrás apenas da soja, sendo o segundo maior exportador do grão. A região Centro-Oeste é destaque na produção do milho para diversos fins, como indústria alimentícia, produção de ração animal e de etanol. Em 20 anos, a sua produção cresceu em 193,55%, enquanto a área obteve acréscimo de 45,79%. Em 2021, o Brasil produziu mais de um bilhão de toneladas de milho (CONAB, 2021).

O milho é matéria-prima de diversos pratos típicos brasileiros como canjica, cuscuz, polenta, entre outros e componente para fabricação de biscoitos, pães e vários outros alimentos. Na produção de ração animal, o milho é um elemento básico juntamente com a soja, para a suinocultura e avicultura, sendo estes dois mercados competitivos internacionalmente e geradores de receita para o Brasil (CALDARELLI, 2012). A utilização do milho na fabricação de etanol explica o aumento da produção do grão no Brasil (CONAB, 2019). De acordo com a União da Indústria de Cana-de-açúcar (Unica) a produção de Etanol de milho alcançou 2,57 bilhões de litros no atual ciclo, com aumento de 58,13% em relação à safra 2019/20. A participação do etanol de milho na fabricação total de biocombustível no Centro-Sul totalizou 8,45% (NOVA CANA, 2021).

Sua aplicação técnica é essencial no sistema de rotação de culturas (milho/soja), sendo cultivado em diferentes tipos de propriedades (pequenas, médias e grandes), principalmente para produção de grãos ou para silagem (ARTUZO, et al., 2019). Graças a modernização da agricultura a partir da metade do século XX, o sistema de produção do milho avançou. O crescimento na produção impactou o abastecimento do mercado nacional e no aumento de exportações (FAVRO et al., 2015). Entretanto, o crescimento na produtividade dos grãos envolve inúmeras variáveis que influenciam no incremento produtivo (ARTUZO, et al., 2019).

2.3. Alternativa para redução dos efeitos do déficit hídrico

Nos últimos anos o interesse dos cientistas por sistemas de cultivos mais sustentáveis aumentou bastante. De acordo com Wang et al. (2015), a agricultura sustentável traz benefícios a saúde e produtividade do solo. A diversidade da biomassa microbiana do solo é um indicador sensível que pode ser empregado no monitoramento das alterações ambientais, podendo influenciar nas sugestões de sistemas de manejo a tempo de evitar degradação do solo (SILVA et al., 2011).

A microbiota do solo é complexa, com inúmeros micro-organismos presentes, como proteobactérias, bactérias fixadoras de nitrogênio, bactérias promotoras de crescimento de plantas e fungos micorrízicos arbusculares. Existem diversos fatores que contribuem para a existência e sobrevivência destes micro-organismos, como por exemplo boas práticas agrícolas (OMOTAYO e BABALOLA, 2020).

É na rizosfera, região onde solo e raízes entram em contato que é diretamente influenciada pelos exsudatos das raízes das plantas, que as atividades microbianas são fundamentais para o funcionamento das plantas, auxiliando na absorção de nutrientes e protegendo contra fitopatógenos (KHATOON, et al., 2020). Dentre os vários micro-organismos presentes no solo, encontram os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) com importância econômica e ecológica (MERGULHÃO et al., 2014).

Os FMA não são cultiváveis sem a presença de um hospedeiro vegetal. São incapazes de absorver carboidratos que não sejam do interior de uma célula vegetal. Portanto, estes micro-organismos dependem inteiramente de seus hospedeiros para crescimento e reprodução, conferindo-lhes o status de biotróficos obrigatórios (BONFANTE e GENRE, 2010).

Entretanto, com sua disseminação nos mais diferentes ecossistemas terrestres, os FMA têm baixa especificidade vegetal, podendo colonizar o córtex radicular de diversas espécies de plantas (STURMER e SIQUEIRA, 2013). A colonização das raízes pelos FMA se caracteriza, principalmente pelo crescimento intracelular das hifas no tecido cortical e pela diferenciação de hifas intracelulares terminais em arbúsculos, estruturas efêmeras, responsáveis pela troca bidirecional de nutrientes entre os simbioses, além da participação de outras estruturas próprias da associação, como vesículas e células auxiliares relacionadas ao armazenamento de nutrientes (MAIA, 2010).

As raízes são as primeiras a serem afetadas pelo déficit hídrico, e, é através de suas células corticais que os FMA penetram. Estruturas formadas como os arbúsculos, são estruturas ramificadas com acúmulo de lipídeo e glicogênio e as vesículas, estruturas de reserva de nutrientes (SMITH e SMITH, 2011). Estes micro-organismos adquirem carboidrato/carbono fotossintético das raízes das plantas hospedeiras e em troca fornecem nutrientes do solo para as plantas (MATHUR et al., 2018).

Os FMA colaboram para o aumento do sistema radicular das plantas através de sua extensa rede de hifas que ajudam a planta a ultrapassar a zona de depleção (resistência alta), e conseguir explorar maior volume de solo captando maior quantidade de nutrientes e água (MATHUR et al., 2018). Sendo assim, estes micro-organismos contribuem para que as plantas suportem situações adversas como estresses abióticos ou bióticos.

Estes fungos também atuam no processo de formação dos solos, pois são capazes de produzir glomalina, uma glicoproteína imunorreativa recalcitrante. Essa glicoproteína faz parte da composição da parede celular das hifas e quando se acumula no solo, após o processo de decomposição dos micro-organismos, tem a capacidade de agregar partículas do solo, estabilizando agregados, absorvendo o carbono naturalmente e criando espaços sobre a superfície, permitindo a penetração de água, oxigênio e raízes (RAMOS e MARTINS 2010; MAIA, 2010).

As culturas de grão são beneficiadas pela associação com FMA. Ren et al. (2019) compararam plantas de milho (*Zea mays* L.) sem inoculação com plantas inoculadas com o FMA *Funneliformis mossae* e observaram ganho de até 33% no crescimento das plantas inoculadas. Além disso, também detectaram que plantas micorrizadas foram mais eficientes no uso da água sob déficit hídrico, chegando a ser 46% maior que plantas não inoculadas sob estresse, sendo considerado essenciais na melhoria da tolerância ao déficit hídrico.

Plantas que se encontram em condições de seca podem sofrer com efeitos tóxicos como a destruição dos centros de reações, e acarretará a interrupção do fluxo de elétrons no processo fotossintético. Entretanto, além do favorecimento do uso eficiente da água, os FMA podem contribuir em maior concentração de clorofilas, resultando em aumento da eficiência fotossintética da planta (ZHU et al., 2012).

Zhu et al. (2012) perceberam que a simbiose micorrizica com o FMA *Claroideoglomerus etunicatum* protegeu plantas de milho contra o déficit hídrico através da melhoria das trocas gasosas, maior concentração de pigmentos fotossintéticos e melhor uso eficiente da água. Em plantas de trigo, Zhou et al. (2015) observou que a inoculação com FMA acarretou melhoria no crescimento das plantas pelo aumento fotossintético durante o déficit hídrico. O FMA utilizado foi o *Glomus mosseae*, resultando em aumento de biomassa, crescimento e produção de grãos.

Em estudo realizado por Mathur et al. (2018) em plantas de milho inoculadas com cultura inicial mista composta, principalmente pelos FMA *Rhizophagus intraradices*, *Funneliformis mosseae* e *F. geosporum* sob estresse em alta temperatura, pode-se observar que, além de aumento nos parâmetros morfológicos básicos (como largura da folha, altura da planta e número de espigas), a eficiência quântica, transporte linear de elétrons do FSII e assimilação de carbono nas plantas inoculadas foram maiores quando comparadas com as plantas sem inoculação. Este aumento indica a colaboração da simbiose quando as plantas se encontram em situação de estresse.

Alguns autores não consideram os FMA como biofertilizantes por não adicionarem fósforo (P) ao solo, entretanto a função destes micro-organismos não pode ser ignorada, visto que altera a dinâmica de P no solo auxiliando sua absorção pela planta (CARDOSO et al., 2010). As hifas extrarradiculares produzidas pelos FMA conferem as plantas maior área radicular, possibilitando a exploração de maior volume de solo, favorecendo maior absorção de água e nutrientes, principalmente de fósforo (P) e nitrogênio (N), elementos essenciais para o crescimento e desenvolvimento das culturas (RIZVI et al., 2015; RIVERO et al., 2015; HART et al., 2016).

O aumento no teor de nutrientes das plantas através da simbiose micorrizica é importante, possibilitando o desenvolvimento de tecnologia limpa capaz de promover uma agricultura sustentável. Isso acarreta a diminuição do uso de fertilizantes químicos nos solos agrícolas, visto que os FMA são ágeis na obtenção e transporte desses elementos para as plantas, e favorece o metabolismo vegetal (PAWAR et al., 2018).

Pioufle et al. (2019) observaram em seu estudo efeito benéfico do FMA na recuperação, após estresse hídrico em plantas de milho. Houve maior absorção de Pi, aumento da eficiência do uso instantâneo da água e maior conteúdo de água em brotação de plantas inoculadas durante o período de recuperação

Além dos benefícios nutricionais e de crescimento das plantas, a associação micorrizica traz outros benefícios. Pawar et al. (2018) estudando 10 espécies de FMA (*Glomus mosseae*, *Glomus clarum*, *Glomus fasciculatum*, *Glomus intraradices*, *Glomus ambisporum*, *Gigaspora gigantea*, *Acaulospora denticulata*, *Glomus globiferum*, *Gigaspora albida* and *Glomus pansiholus*) inoculadas em amendoim (*Arachis hypogaea* L.) observaram que plantas inoculadas tiveram aumento na porcentagem de óleo extraído das sementes, além de incremento do teor de ácidos graxos, concedendo maior vida útil ao óleo extraído em armazenamento.

Vieira et al. (2021) concluíram que a inoculação com o FMA *Rhizophagus clarus* em plantas de jambu (*Acmella oleracea*) com pequenas doses de P incrementou na produção de biomassa seca da parte aérea e nos teores de P, K, Ca e Mg. Além disso, também houve aumento no teor de fenóis totais em plantas fertilizadas com 60 mg kg⁻¹ de P. Concluiu-se também que nessa mesma dose, plantas de jambu (*Acmella oleracea*) inoculadas com *Claroideoglomus etunicatum* tiveram maior concentração de espilantol, principal constituinte da oleorresina ou extrato concentrado do jambu (*Acmella oleracea*).

Os FMA também atuam como biorreguladores intervindo no equilíbrio fitohormonal das plantas. Essa atuação influencia no desenvolvimento vegetal e alivia os efeitos do estresse ambiental. Sendo assim, eles atuam como bioprotetores (ROUPHAEL et al., 2015) permitindo o aumento da biomassa e alteração da produção de metabólitos secundários (BONFIM et al., 2015).

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Verificar o comportamento fisiológico das plantas de milho sob déficit hídrico, inoculadas com os FMA *Rhizophagus clarus*, *Claroideoglomus etunicatum* e inoculante comercial Rootella BR[®].

3.2 Específicos

- Observar se plantas de milho inoculadas com FMA tiveram aumento da tolerância sob déficit hídrico;
- Verificar entre os FMA *Rhizophagus clarus*, *Claroideoglossum etunicatum* e *Rootella BR*[®] potenciais isolados para o aumento da tolerância ao déficit hídrico através de avaliações fisiológicas;
- Identificar o papel fisiológico da tolerância das plantas associadas aos alvos selecionados anteriormente;
- Observar o potencial de simbiose entre FMA e raízes de plantas.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, G. Role of functional groups of microorganisms on the rhizosphere microcosm dynamics. In VARMA, A.; ABBOTT, L.; WERNE, D.; HAMPP, R. **Plant Surface Microbiology**. New York: editor Springer, p. 51–68, 2004.

ARTUZO, F. D.; FOGUESATTO, C. R.; MACHADO, J. A. D.; OLIVEIRA, L.; SOUZA, A. R. L. O potencial produtivo brasileiro: uma análise histórica da produção de milho. **Revista em agronegócio e meio ambiente**, v. 12, n. 2, p. 515-540, 2019.

BARBOSA, J. R.; FILHO, J. V. P.; OLIVEIRA, V. M.; SOUSA, G. G.; GOES, G. F.; LEITE, K. N. Produtividade da cultura da soja irrigada com déficit hídrico regulado no cerrado piauiense. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v. 14, n. 4, p. 4200 – 4210, 2020.

BARRA, P. J.; VISCARDI, S.; JORQUERA, M. A.; DURAN, P. A.; VALENTINE, A. J.; MORA, M. L. 2018. Understanding the strategies to overcome phosphorus-deficiency and aluminum-toxicity by ryegrass endophytic and rhizosphere phosphobacteria. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. 1155, 12p. 2018.

BERGAMASCHI, H.; MATZENAUER, R. O milho e o clima. Porto Alegre: **EMATER**, 84p, 2014.

BERNINI, C. S.; GUIMARÃES, P. DE S.; GARCIA, L. A. C.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z. Caracteres fisiológicos e agronômicos em progênies interpopulacionais de milho

selecionadas sob condições de déficit hídrico. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 15, n. 1, p.39-52, 2016.

BIANCHI, L.; GERMINO, G. H.; SILVA, M. A. Adaptação das Plantas ao Déficit Hídrico. **Acta Iguazu**, v.5, n.4, p. 15-32, 2016.

BLUM, A. Drought Stress and its Impact. Disponível em: <<https://plantstress.com/drought/>> Acesso em: 27 de agosto de 2016.

BONFANTE, P.; GENRE, A. Mechanisms underlying beneficial plant-fungal interactions in mycorrhizal symbiosis. **Nature Communications**, v. 1, n. 4, p. 1-11, 2010.

BONFIM, M. V. P.; SILVA, F. S. B.; MAIA, L. C. Production of secondary metabolites by mycorrhizal plants with medicinal or nutritional potential. **Acta Physiologiae Plantarum** v. 37, n. 27, 12p., 2015.

CALDARELLI, C. E.; BACCHI, M. R. P. Fatores de influência no preço do milho no Brasil. **Nova Economia**, v. 22, n. 1, p. 141-164, 2012.

CHAVARRIA, G.; SANTOS, H. P. Plant water relations: absorption, transport and control mechanisms. In: *Advances in selected plant physiology aspects* (eds. by Montanaro G & Dichio B), pp. 105-132. Rijeka: Intech. 2012.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos - 10º Levantamento - Safra 2018/2019**. Disponível em: < <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>>. Acesso em: 23 de julho de 2019.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos - 9º Levantamento - Safra 2020/2021**. Disponível em: < <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>>. Acesso em: 25 de junho de 2021.

ELDAKAK M.; MILAD S. I. M.; NAWAR A. I.; ROHILA J. S. Proteomics: a biotechnology tool for crop improvement. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, n. 35, p.1–12, 2013.

FAVRO, J.; CARAVIERI, A. M. M.; MARCONATO, M.; NASCIMENTO, S. P.; CAMARA, M. R. G.; CALDARELLI, E. Análise da Evolução da Produtividade do Milho em Estados Seleccionados no Brasil nos Anos de 2001 e 2011. **Economia e Região**, v. 3, n. 2, p. 25-45, 2015.

GUIMARÃES, P. S.; ROCHA, D. S.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z. Conteúdo de carboidrato foliar em híbridos de milho submetidos à restrição hídrica. **Evidência – Ciência e Biotecnologia**, v.19, n.2, p.93-112, 2019.

HART, M.; EHRET, D. L.; KRUMBEIN, A.; LEUNG, C.; MURCH, S.; TURI, C.; HOLSTE, E. K.; HOLL, K. D.; ZAHAWI, R. A.; KOBE, R. Reduced above ground tree growth associated with higher arbuscular mycorrhizal fungal diversity in tropical forest restoration. **Ecology and Evolution**. v. 6, n. 20, p. 7253–7262, 2016.

HERNÁNDEZ, M.; ECHARTE, L.; DELLA MAGGIORA, A.; CAMBARERI, M.; BARBIERI, P.; CERRUDO, D. Maize water use efficiency and evapotranspiration response to N supply under contrasting soil water availability. **Field Crops Research**, v. 178, n. 1, p.8-15, 2015.

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE - IPCC. Climate Change 2014: Impacts, adaptation, and vulnerability. Cambridge: **Cambridge University Press**, 2014.

JORHI, A. K.; OELMÜLLER, R.; DUA, M.; YADAV, V.; KUMAR, M.; TUTEJA, N.; VARMA, A.; BONFANTE, P.; PERSSON, B. L.; STROUD, R. M. Fungal association and utilization of phosphate by plants: success, limitations, and future prospects. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, n. 984, 13p. 2015.

JÚNIOR, G. N. A.; GOMES, F. T.; SILVA, M. J.; JARDIM, A. M. F. R.; SIMÕES, V. J. L. P.; IZIDRO, J. L. P. S.; LEITE, M. L. M. V.; TEIXEIRA, V. I.; SILVA, T. G. F. Estresse hídrico em plantas forrageiras: Uma revisão. **PUBVET**, v.13, n.1, p.1-10, 2019.

KHATOON, Z.; HUANG, S.; RAFIQUE, M.; FAKHAR, A.; KAMRAN, M. A.; SANTOYO, G. Unlocking the potential of plant growth-promoting rhizobacteria on soil health and the sustainability of agricultural systems. **Journal of Environmental Management**, v. 273, n. 111118, 2020.

LISAR, S. Y. S.; MOTAFAKKERAZAD, R.; HOSSAIN, M. M.; RAHMAN, I. M. M. Water stress in plants: causes, effects and responses. **Intech Open**, cap. 1, v. 1, p. 1-14, 2012.

MAIA, L. C.; SILVA, F. S. B.; GOTO, B. T. Estrutura, ultraestrutura e germinação de glomerosporos. In: Siqueira, J.O.; de Souza, F.A.; Cardoso, E.J.B.N.; TSAI, S.M. (Org.). *Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil*. Lavras: **Editora UFLA**, p 76 – 118, 2010.

MAIA, L.C. Micorrizas. In: ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J.L. **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**, 2ª edição, p. 573-605, 2010.

MATHUR, S., SHARMA, M. P., & JAJOO, A. Improved photosynthetic efficacy of maize (*Zea mays*) plants with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) under high temperature stress. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 180, p. 149–154, 2018.

MERGULHÃO, A. C. E. S.; SILVA, M. V.; LYRA, M. C. C. P.; FIGUEIREDO, M. V. B.; SILVA, M. L. R. B.; MAIA, L. C. Caracterização morfológica e molecular de fungos micorrízicos arbusculares isolados de áreas de mineração de gesso, Araripina, PE, Brasil. **Hoehnea**. v. 41, n. 3, p. 393- 400, 2014.

MINUZZI, R. B.; LOPES, F. Z. Agronomic performance of maize in different climatic scenarios in the Central West of Brazil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, n. 8, p. 734-740, 2015.

MIRANDA, J. C. C. Cerrado: micorriza arbuscular: ocorrência e manejo. **Embrapa**, 2ª edição, 2012.

NOVA CANA. [Unica] Números finais da safra de cana-de-açúcar 2020/21 no Centro-Sul. 2021. Disponível em < <https://www.novacana.com/n/cana/safra/unica-numeros-finais-safra-cana-de-acucar-2020-21-centro-sul-130421>> Acesso em: 27/07/2021.

OMOTAYO, O. P.; BABALOLA, O. O. Resident rhizosphere microbiome's ecological dynamics and conservation: Towards achieving the envisioned Sustainable Development Goals, a review. **International Soil and Water Conservation Research**, v. 9, n. 1, p. 127-142, 2020.

PAWAR, P. B.; KHADILKAR, J. P.; KULKARNI, M. V.; MELO, J. S. An approach to enhance nutritive quality of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) seed oil through endo mycorrhizal fertigation. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 14, p. 18–22, 2018.

PICCOLI, P.; TRAVAGLIA, C.; COHEN, A.; SOSAL, L.; MAIZEEJO, P.; MASUELLI, R.; BOTTINI, R. An endophytic bacterium isolated from roots of the halophyte *Prosopis strombulifera* produces ABA, IAA, gibberellins A1 and A3 and jasmonic acid in chemically defined culture medium. **Plant Growth Regulation**, v. 64, p. 207-210, 2011.

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, n. 897, 2019.

RAMOS, A. C.; MARTINS, M. A. Fisiologia de micorrizas arbusculares. Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil. Lavras: **UFLA**, cap. 05, 2010.

REN, A. T.; ZHU, Y.; CHEN, Y. L.; REN, H. X.; LI, J. Y.; ABBOTT, L. K.; XIONG, Y. C. Arbuscular mycorrhizal fungus alters root-sourced signal (abscisic acid) for better drought acclimation in *Zea mays* L. seedlings. **Environmental and Experimental Botany**, v. 167, p. 103824, 2019.

RIVERO, J.; GAMIR, R. A.; POZO, M. J.; FLORS, V. Metabolic transition in mycorrhizal tomato roots. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, n. 598, p. 1-13, 2015

RIZVI, R.; IQBAL, J.; MAHMOOD, I.; ANSARI, R. A. Comparative efficacy of different arbuscular-mycorrhizal fungal spp. (AMF) on tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **e-Journal of Science and Technology**, v. 1, n. 10, p. 13-26, 2015.

ROUPHAEL, Y.; FRANKENB, P.; SCHNEIDER, C.; SCHWARZ, D.; GIOVANNETTI, M.; AGNOLUCCI, M.; PASCALEA, S.; BONINI, P.; COLLA, G. Arbuscular mycorrhizal fungi act as biostimulants in horticultural crops. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 91-108, 2015.

SILVA, A. M. R. C.; LOPES, M. M.; TEIXEIRA, D. Análise ambiental do assentamento bela vista do Chibarro - Araraquara-SP: legislação incidente, uso e ocupação do solo e

percepção ambiental. 2011. (Dissertação de Mestrado. Universidade de Araraquara – UNIARA). **Programa de Mestrado em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente.**

SMITH, S. E.; SMITH F. A. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystem scales. **Annual Review of Plant Biology**, v. 62, p. 227–250, 2011.

STURMER, S. L.; SIQUEIRA, J. O. Fungos Micorrízicos. In: MOREIRA, F. M. S.; CARES, J.E.; ZANETTI, R.; STÜRMER, S.L. (Eds.). O Ecossistema solo: componentes, relações ecológicas e efeitos na produção vegetal. Lavras: **Editora UFLA**, p. 289-311, 2013.

VÁRALLYAY, G. The impact of climate change on soils and on their water management. **Agronomy Research**, v.8, p.385-396, 2010.

VIEIRA, M. E.; FREITAS, M. S. M.; PEÇANHA, D. A.; LIMA, T. C.; MARTINS, M. A.; VIEIRA, I. J. C. V. Arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus in spilanthal and phenolic compound yield in jambu plants. **Horticultura Brasileira [online]**, v. 39, n. 2, p. 192-198, 2021.

WANG, B.; QIU, Y. L. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. **Mycorrhiza**, v. 16, p. 299-363, 2006.

WANG, J.; WANG, X.; XU, M.; FENG, G.; ZHANG, W.; YANG, X.; HUANG, S. Contributions of wheat and maize residues to soil organic carbon under long-term rotation in north China. **Scientific Reports**, v. 5, n. 11409, 2015.

WHEELER, T.; VON BRAUN, J. Climate Change Impacts on Global Food Security. **Science**, v. 341, n. 6145, p. 508-513, 2013.

ZHOU, Q.; RAVNSKOV, S.; JIANG, D.; WOLLENWEBER, B. Changes in carbon and nitrogen allocation, growth and grain yield induced by arbuscular mycorrhizal fungi in wheat (*Triticum aestivum* L.) subjected to a period of water deficit. **Plant Growth Regulation**, v. 75, n. 3, p. 751–760, 2015.

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

CAPÍTULO I: RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE PLANTAS DE MILHO (*Zea mays* L.) INOCULADAS COM FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES SOB DÉFICIT HÍDRICO.

RESUMO

O milho (*Zea mays*) é um cereal de origem mexicana cultivado em grande parte do mundo, extensivamente utilizado como alimento humano ou para ração animal, por suas qualidades nutricionais. Atualmente é o segundo grão mais produzido no Brasil, ficando atrás apenas da soja e o país é o segundo maior exportador do grão. Entretanto, a deficiência de água é um dos principais fatores responsáveis pela diminuição da produção de milho, pois afeta as relações hídricas das plantas, reduzindo o crescimento e o desenvolvimento e, conseqüentemente, a produtividade das culturas. Nesse cenário, torna-se importante a utilização dos fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Esses fungos colonizam as raízes e a rizosfera através de sua extensa rede de hifas, prolongando o sistema radicular das plantas, ampliando a exploração e absorção de nutrientes do solo, conseqüentemente o desenvolvimento e a produtividade vegetal aumentam. Dessa maneira, o objetivo deste estudo foi verificar o comportamento fisiológico das plantas de milho sob déficit hídrico, inoculadas com os FMA *Rhizophagus clarus*, *Claroideoglobus etunicatum* e inoculante comercial Rootella BR[®]. Sementes do milho foram cultivadas e inoculadas com 90 g do *R. clarus*, pois o número de esporos por grama foi de 1,2, 30g do *C. etunicatum*, separadamente, pois o número de esporos por grama foi de 3,6 e inoculadas com o inoculante comercial Rootella, na proporção de 120g por hectare. A diferença na quantidade dos inoculantes *R. clarus* e *C. etunicatum* foi para igualar o total de esporos por vaso (108 esporos). As plantas foram cultivadas em casa de vegetação e distribuídas nos tratamentos: 1) Milho sem inoculação (controle) com irrigação; 2) Milho sem inoculação (controle) sem irrigação; 3) Milho + *Rhizophagus clarus* irrigado; 4) Milho + *Rhizophagus clarus* sob déficit; 5) Milho + *Claroideoglobus etunicatum* irrigado e 6) Milho + *Claroideoglobus etunicatum* sob déficit, 7) Milho + Rootella irrigado e 8) Milho + Rootella sob déficit. As plantas foram submetidas ao déficit hídrico no estágio V3, mantendo os vasos em 20% da CC, por 10 dias, e as primeiras análises foram feitas, em seguida foram reirrigadas por 2 dias e as análises serão feitas novamente. Os resultados apontam que as plantas conseguiram se recuperar de maneira favorável de acordo com os dados fisiológicos apresentados. Nota-se que em plantas inoculadas não houve danos ao aparato fotossintético das plantas. Esses dados demonstram que os FMA colaboram para

melhor recuperação das plantas, após um período de seca e um novo período de irrigação. A inoculação com os FMA favorece as plantas na recuperação pós-estresse hídrico.

Palavras-chave: Reidratação, restrição hídrica, simbiose, inoculação.

1. INTRODUÇÃO

O milho é um cereal essencial na alimentação global dos seres humanos, além de importante para produção de etanol, ração animal, amido de milho e xarope (BEGUM et al., 2019). Por ser uma planta C₄, o milho tem maior eficiência no uso de água em comparação com plantas C₃, por sua anatomia funcional são consideradas mais evoluídas naturalmente e capazes de concentrar mais CO₂ nas células, tornando a fotossíntese um processo mais eficaz (BRAGA et al., 2021). Isso porque o mecanismo de concentração de CO₂ da Rubisco mantém alta relação CO₂ / O₂ e reduz a fotorrespiração em plantas com aparato fotossintético do tipo C₄. Esta alta razão CO₂ / O₂ é pela alta afinidade da PEPcase pelo CO₂, que por sua vez fixa o dióxido de carbono através da formação de ácido oxálico e carrega este produto de quatro carbonos para as células da bainha vascular, e é descarboxilado. A seguir, a Rubisco é utilizada para reparar o CO₂ e aumentar sua concentração no meio, fazendo com que a Rubisco opere no limite de sua taxa máxima de saturação de CO₂, inibindo sua atividade de oxigenase e eliminando a fotorrespiração (BERGAMASCHI e MATZENAUER, 2014).

A seca é um dos estresses ambientais mais sérios que afetam negativamente o crescimento e a produtividade das plantas. Devido à taxa de transpiração reduzida e ao transporte ativo e mudanças de permeabilidade da membrana, isso resulta na absorção limitada de água e nutrientes pelas plantas. Esta mudança afeta o metabolismo dos nutrientes, fotossíntese, respiração, reguladores de crescimento e declínio do crescimento das espécies (PAVITHRA e YAPA, 2018). O déficit hídrico prejudica diretamente o crescimento e desenvolvimento das plantas (WU et al., 2013) e esse prejuízo ocasiona a inibição da fotossíntese, pois ocorrerá a redução da assimilação de CO₂, em virtude do fechamento estomático, reduzindo a turgescência das células-guarda, essenciais para manter os estômatos abertos (PINHEIRO e CHAVES, 2011).

Existem microrganismos do solo que são bem conhecidos por terem efeitos importantes no ecossistema, como é o caso dos FMA que são parceiros essenciais para as plantas por terem a capacidade de aliviar os efeitos negativos causados por estresse hídrico, auxiliando no crescimento e desenvolvimento das plantas (BAHRAMINIA et al., 2020). Com isso, espera-se que, quando inoculadas, as plantas apresentem maior absorção de água e nutrientes, resultando em possíveis contribuições para o crescimento das plantas, que pode ocorrer pela invasão da rede de hifas e à produção de glomalina. Estes

fatores melhoram a estrutura do solo, contribuindo para melhor relação hídrica (HASHEM et al., 2018).

Em trabalho realizado a simbiose micorrízica aumentou a biomassa vegetal, teor de clorofila e taxa de transpiração em condições de seca (GHORCHIANI et al., 2018). Também foi demonstrado que a associação micorrízica melhorou a condutância hidráulica da raiz, trocas gasosas, ajuste osmótico (ZHAO et al., 2015) e atividades fotossintéticas sob estresse hídrico (GARG e PANDEY, 2016). Além disto, a tolerância a períodos de deficiência hídrica aumentada por FMA em plantas hospedeiras tem outros mecanismos implícitos, como absorção de água através das hifas micorrízicas extraradicais, melhoria nutricional, produção de glomalina na estabilidade de agregados do solo, sistemas protegidos com antioxidantes e expressão de aquaporina (BAGHERI et al., 2012; ZOU et al., 2015; QUIROGA et al., 2018; ZHANG et al., 2018; HE et al., 2019; WU et al., 2019; ZOU et al., 2019).

Visto que o milho é uma das culturas mais essenciais do mundo e levando em consideração o aumento da população mundial, torna-se indispensável a melhoria na produção e rendimento das principais culturas, em condições normais e de seca (BAHRAMINIA et al., 2020). Assim, com este trabalho, objetivou-se verificar o comportamento fisiológico das plantas de milho sob déficit hídrico, inoculadas com os FMA *Rhizophagus clarus*, *Claroideoglossum etunicatum* e inoculante comercial Rootella BR®.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Multiplicação e inoculação dos FMA

A multiplicação dos FMA foi realizada com a disponibilização do inóculo de *Rhizophagus clarus* e *Claroideoglossum etunicatum* procedentes da coleção do Laboratório de Microbiologia do Solo da UNESP - Ilha Solteira, doado ao IF Goiano – Campus Rio Verde pelo método da cultura em vaso (GILMORE, 1968). O solo foi coletado em área do IF Goiano Campus Rio Verde e utilizado para a multiplicação sendo misturado com areia (3:1), esterilizado em autoclave, processo repetido por 3 dias consecutivos e posteriormente seco em estufa a 100°C (GERDEMANN; NICOLSON, 1963).

Como planta hospedeira foi utilizada a *Urochloa ruziziensis*, estas foram crescidas em casa de vegetação em condições irrigadas com água destilada por 90 dias e, após este

período, submetidas a condição de estresse hídrico por 7 dias, para indução da proliferação dos esporos de FMA (FERGUSON; WOODHEAD, 1984; MORTON et al., 1993), posteriormente as plantas foram retiradas, uma amostra do solo coletada e avaliado o número de esporos, de acordo com Gerdemann e Nicolson (1963) e Jenkins (1964). A contagem foi realizada em placa de acrílico cancelada com anéis concêntricos sob microscópio estereoscópio. Foi utilizado o inoculante micorrízico comercial Rootella BR[®] à base de *Rhizophagus intraradices*.

2.2 Condições de crescimento das plantas

O solo foi coletado em área do IF Goiano – Campus Rio Verde e uma amostra do solo foi retirada para análise química (Tabelas 1S) para observar a necessidade de calagem de acordo com sua saturação por base. Posteriormente, foi feita uma mistura de solo e areia (3:1) e aplicação do calcário no solo com auxílio de betoneira, colocado em vasos de 3 litros e levados para casa de vegetação, onde o calcário reagiu por 20 dias, até chegar na saturação por base recomendada para a cultura (60 %). Após os 20 dias as sementes de milho (*Zea mays*) foram germinadas nos vasos e crescidas em casa de vegetação sob condições naturais de luz, umidade relativa (65-85 %) e temperatura média de 27°C. O inoculante micorrízico foi constituído por *Rhizophagus clarus*, *Claroideoglossum etunicatum* e inoculante comercial Rootella BR[®]. As plantas foram inoculadas no orifício de semeadura com 90 g do *R. clarus* (1,2 esporos/g), 30 g do *C. etunicatum* (3,6 esporos/g) e Rootella BR[®] na medida comercial de 120 g por hectare, separadamente.

Os vasos foram adubados com 15 g de superfosfato triplo, 2,5 g de cloreto de potássio e 2 g de ureia. Duas semanas após o plantio foi feita adubação de cobertura com 1 g de ureia e 1,5 g de cloreto de potássio por vaso.

2.3 Indução do estresse hídrico em plantas de milho

As plantas foram distribuídas nos seguintes tratamentos: 1) Milho sem inoculação (controle) com irrigação 2) Milho sem inoculação (controle) sem irrigação, 3) Milho + *Rhizophagus clarus* irrigado 4) Milho + *Rhizophagus clarus* sob déficit, 5) Milho + *Claroideoglossum etunicatum* irrigado 6) Milho + *Claroideoglossum etunicatum* sob déficit, 7) Milho + Rootella BR[®] irrigado e 8) Milho + Rootella BR[®] sob déficit. Cada tratamento foi constituído por cinco repetições contendo cada uma planta por vaso. O controle do conteúdo de água foi realizado através de sensores de irrigação, modelo 10

HS (METER Group, Inc. USA), uma vez ao dia (pela manhã) no período anterior a imposição do déficit hídrico e duas vezes ao dia no período de déficit (pela manhã e final da tarde). As plantas foram submetidas ao déficit hídrico no estágio V3, quando três folhas estavam completamente desenvolvidas, mantendo os vasos do déficit em 20% da capacidade de campo por 10 dias e as primeiras análises realizadas. Em seguida as plantas foram reirrigadas por 2 dias a 80% da capacidade de campo e análises foram feitas novamente. As análises destrutivas (potencial hídrico, colonização micorrizica, densidade de esporos, pigmentos fotossintéticos, vazamento eletrolítico e peso seco de folhas, raízes e total) foram realizadas apenas após a reirrigação.

2.4 Medição do potencial hídrico

O potencial hídrico (Ψ_w) foi medido na antemanhã em bomba de Scholander após a reirrigação. A determinação consiste na coleta de folhas completamente expandidas que foram colocadas na câmara da bomba de pressão, e, em seguida, foi aplicada pressão até ocorrer à exsudação pelo corte feito no pecíolo da folha, para a leitura da pressão aplicada (SCHOLANDER et al., 1965).

2.5 Medições fisiológicas

A análise foi realizada utilizando um sistema de determinações da concentração de gases no infravermelho (IRGA, Li-Cor – Li-6800). Parâmetros como taxa fotossintética líquida (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), concentração interna de CO_2 (C_i , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$), concentração ambiente de CO_2 (C_a , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$) e transpiração (E , $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) foram determinados em todos os tratamentos. Foram utilizados $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de irradiância durante todo o experimento. As medições foram realizadas no período das 8h às 11h.

2.6 Medições de Fluorescência da Clorofila *a*

As medições de fluorescência da clorofila foram realizadas utilizando o equipamento IRGA, Li-Cor – Li-6800 às 4h da manhã, após o escurecimento das folhas por 40 minutos a temperatura ambiente, para medição da fluorescência mínima (F_o) e a fluorescência máxima (F_m). Dessa forma, obteve-se outros parâmetros como o rendimento quântico máximo de FSII, calculado por F_v / F_m ($F_v = F_m - F_o$), enquanto o rendimento quântico real de FSII foi calculado por $\Phi_{\text{FSII}} = (F_m' - F) / F_m'$. E, em estado

de adaptação à luz, o quenching não fotoquímico (qN) foi calculado por $qN = 1 - (F_m' - F_o) / (F_m - F_o)$.

2.7 Características Morfológicas

Foi obtido a altura e diâmetro das plantas e posteriormente, os caules, folhas e raízes foram separados e secados em estufa a 65°C, com circulação de ar forçada, para obtenção do peso seco de folhas, raízes e peso seco total.

2.8 Determinação do conteúdo de clorofila

O conteúdo de carotenoides, clorofila *a* e *b* foram determinadas espectrofotometricamente a 480 nm, 649,1 nm e 665,1 nm, respectivamente, após a extração dos pigmentos, a partir de um disco foliar 0,5 cm com 5 ml de CaCO₃ saturado em DMSO a 65°C em banho-maria (WELLBURN, 1994). Os discos permaneceram na solução por 24 h. Os valores foram transformados para teores de clorofilas *a*, *b* e totais nas folhas, expressos em unidades de área ($\mu\text{g cm}^{-2}$).

2.9 Observação de associação entre fungos e raízes de milho

Amostras de raízes previamente mantidas em álcool 70% foram despigmentadas pelo método de Koskey e Gemma (1989), modificado em que as raízes foram imersas em KOH (10%) em banho Maria a 90°C, por 60 minutos. Em seguida, as raízes foram lavadas com água destilada e transferidas para solução de HCl (1%) por 5 minutos. Depois, o HCl foi retirado e adicionado o corante azul de tripano (0,05%) em lactoglicerol, incubando por 10 minutos em banho-maria, a 90°C (PHILLIPS; HAYMAN, 1970), para coloração das raízes.

Foram confeccionadas lâminas com fragmentos de raízes, permitindo a visualização das estruturas em microscópio Leica DM500, com câmera Leica ICC 50 adaptada ao software LAZ EZ, versão 1.8.0, de forma a classificá-las de acordo com literatura especializada (PETRINI, 1986; PETERSON et al., 2004).

2.10 Densidade de esporos

Foi determinada a densidade de esporos no solo de cada vaso utilizando a técnica de peneiramento úmido (GERDEMANN e NICHOLSON, 1963). Assim, 100 g de solo foi lavado e peneirado 6 vezes, colocado em tubo falcon com água e levado para centrífuga a 3000 rpm durante 3 minutos, depois dispensou a água e adicionou uma

solução de sacarose a 50% e levou para centrífuga por mais 2 minutos. Em seguida, o líquido que contém os esporos foi despejado na peneira para a lavagem desta amostra e por fim, armazenado em recipiente até a análise no laboratório, procedimento que utiliza uma placa canelada para a contagem do número de esporos presente no solo através do equipamento estereoscópio (4x).

2.11 Vazamento eletrolítico

Cinco discos foliares foram coletados de folhas superiores completamente expandidas e lavados em água deionizada. Em seguida foi medido o vazamento de eletrólitos através da medição da condutividade elétrica livre da solução do frasco, utilizando medidor portátil de condutividade elétrica, modelo TDS-3. Após essa primeira medição, os frascos foram para estufa a 100°C por 1 hora e, posteriormente, fez-se a segunda leitura referente a condutividade total.

2.12 Análise estatística

O experimento foi um fatorial duplo, sendo 2 tratamentos hídricos (irrigado e déficit hídrico) x 4 tratamentos de inoculação (controle, Rotella BR[®], *Rhizophagus clarus*, *Claroideoglossum etunicatum*) x 5 repetições por tratamento, totalizando 40 vasos. Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey (5%). Os procedimentos estatísticos foram realizados utilizando o programa computacional SISVAR 11 (FERREIRA, 2011).

3. RESULTADOS

O potencial hídrico (Ψ_w) medido após a reirrigação diferiu entre os tratamentos hídricos e de inoculação (Figura 1A). Plantas do DH não apresentaram diferença. Plantas irrigadas e inoculadas com *R. intraradices* (Rootella BR[®]) foram as que exibiram maior valor de potencial hídrico ($\Psi_w -0,06$), diferindo das demais. Analisando os tratamentos hídricos dentro dos níveis de inoculação, apenas o tratamento inoculado com *R. intraradices* (Rootella BR[®]) diferiu entre DH e irrigadas, no qual plantas irrigadas tiveram maior Ψ_w que plantas do DH

A densidade de esporos diferiu entre os fatores (Figura 1B). O maior número de esporos em plantas do tratamento de DH foi observado em plantas inoculadas com *C. etunicatum* (139,66), porém esse tratamento não diferiu das inoculadas com *R. clarus*

(131). O menor número de esporos foi apresentado em plantas sem inoculação (79,66), mas não diferiu das inoculadas com *R. intraradices* (Rootella BR[®]). Comparando os tratamentos hídricos dentro de cada nível de inoculação, apenas as inoculadas com *R. intraradices* (Rootella BR[®]) apresentaram diferença, em que plantas do tratamento irrigado foram maiores que plantas do déficit hídrico. A porcentagem de colonização micorrízica (Figura 1C) diferiu apenas nos tratamentos de inoculação. Plantas inoculadas com *C. etunicatum* apresentaram maior valor médio de colonização (8,5%), seguido das inoculadas com *R. intraradices* (Rootella BR[®]) (7,16%) e *R. clarus* (4,66%). Plantas sem inoculação foram as que tiveram menor valor de colonização micorrízica (3,33%).

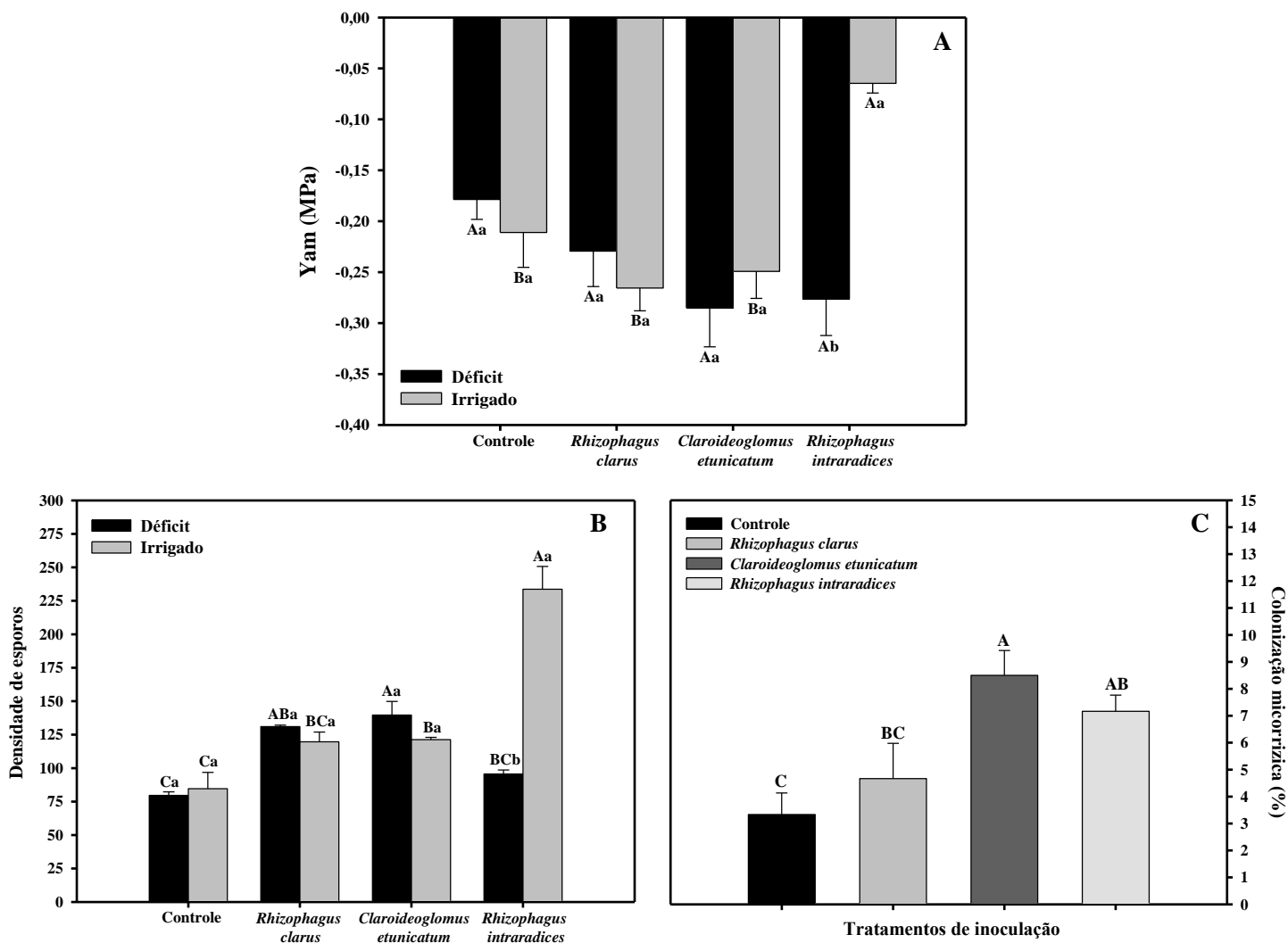


Figura 1: Potencial hídrico (A), densidade de esporos (B) e colonização micorrízica (C) de plantas de milho (*Zea mays*) submetidas a diferentes tratamentos hídricos e inoculação com FMA, após reirrigação. Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre os tratamentos de inoculação e minúsculas entre os tratamentos hídricos, não diferem entre si pelo teste Tukey (5%).

Após a reirrigação, a taxa fotossintética (Figura 2A) apresentou diferença entre os tratamentos hídricos e de inoculação. Plantas sem inoculação e inoculadas com *R. clarus* e *R. intraradices* (Rootella BR[®]) que passaram pelo déficit foram as que apresentaram os maiores valores médios de *A* (34,31 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 34,38 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 34,43 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente), enquanto plantas inoculadas com *C. etunicatum* tiveram o menor valor médio de fotossíntese (25,33 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$). A taxa fotossintética de plantas irrigadas não apresentou diferença entre os tratamentos de inoculação.

Analisando os tratamentos hídricos dentro dos níveis de inoculação, plantas sem inoculação apresentaram maior valor médio no tratamento irrigado (42,48 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$). O tratamento inoculado com *R. clarus* não apresentou diferença entre déficit (34,38 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$) e irrigado (38,5 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Para plantas inoculadas com *C. etunicatum* e *R. intraradices* (Rootella BR[®]) os maiores valores foram para plantas do tratamento irrigado.

A condutância estomática (*gs*) apresentou diferença entre os tratamentos de inoculação e hídrico (Figura 2B). No tratamento de DH os maiores valores de *gs* foram para inoculadas com *R. clarus* (0,18 $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e *R. intraradices* (Rootella BR[®]) (0,20 $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), porém não diferiu das sem inoculação (0,15 $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). O menor valor foi para as inoculadas com *C. etunicatum* (0,10 $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Em relação aos tratamentos hídricos dentro de cada nível de inoculação, plantas controle e inoculadas com *C. etunicatum* irrigadas apresentaram maior *gs* do que plantas do DH. Inoculadas com *R. clarus* e *R. intraradices* (Rootella BR[®]) não apresentaram diferença entre os tratamentos hídricos.

A transpiração (*E*) apresentou diferença nos tratamentos de maneira isolada (Figura 2C). Para os tratamentos hídricos, *E* foi maior em plantas irrigadas (4,99 $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) do que em plantas sob déficit hídrico (2,85 $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Em relação aos tratamentos de inoculação, o maior valor médio de *E* foi para plantas não inoculadas (3,93 $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), mas não diferiu das inoculadas com *R. clarus* (3,46 $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e *R. intraradices* (Rootella BR[®]) (3,43 $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). O menor valor foi para plantas do tratamento inoculado com *C. etunicatum* (2,88 $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). A eficiência do uso da água não apresentou diferença entre os tratamentos.

A concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a) também diferiu de maneira isolada para os tratamentos (Figura 2D). Em relação aos tratamentos hídricos, o maior valor médio foi observado em plantas irrigadas. Quanto aos tratamentos de inoculação, a maior

média de C_i/C_a foi para inoculadas com *R. intraradices* (Rootella BR[®]), entretanto não diferiu das inoculadas com *R. clarus* e das não inoculadas. O menor valor foi para inoculadas com *C. etunicatum*.

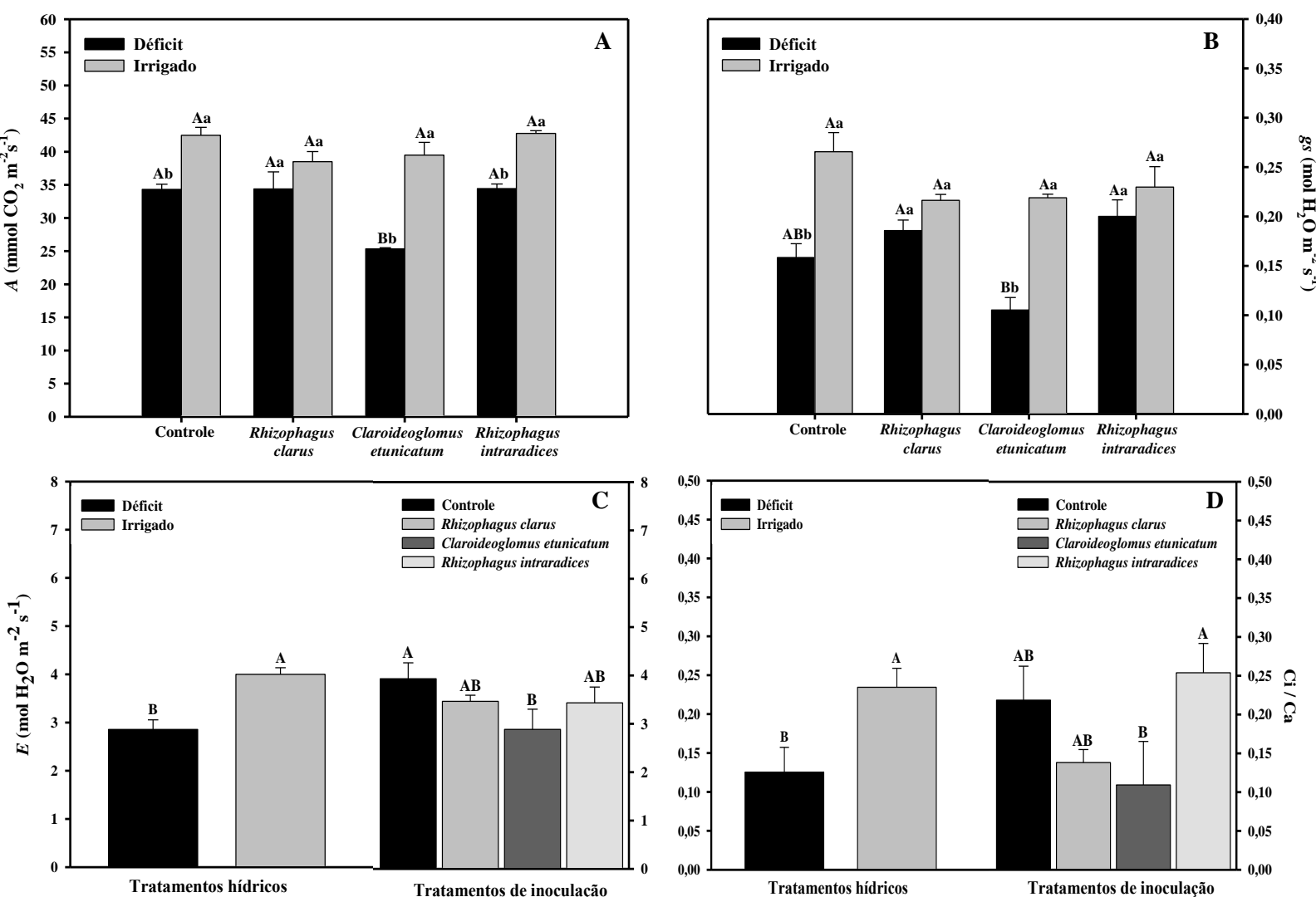


Figura 2. Taxa fotossintética (A), condutância estomática (B), transpiração (C) e concentração interna e externa de CO₂ (D) de plantas de milho (*Zea mays*) submetidas a diferentes tratamentos hídricos e inoculação com FMA, após reirrigação. Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre os tratamentos de inoculação e minúsculas entre os tratamentos hídricos, não diferem entre si pelo teste Tukey (5%).

O transporte de elétrons (ETR) diferiu entre os tratamentos (Figura 3A). Para plantas do DH, o menor valor apresentado foi para inoculadas com *C. etunicatum*. As demais não diferiram. No tratamento hídrico irrigado, as plantas não apresentaram diferença. Observando os tratamentos hídricos dentro dos níveis de inoculação todas as plantas irrigadas foram maiores que plantas submetidas ao déficit. O rendimento quântico

máximo do fotossistema II (Fv/Fm) diferiu de maneira isolada para os tratamentos hídricos e de inoculação (Figura 3B). Plantas do DH foram menores que plantas irrigadas e em relação aos tratamentos de inoculação, plantas não inoculadas e inoculadas com *R. clarus* tiveram maior valor médio de Fv/Fm, entretanto não diferiram das inoculadas com *C. etunicatum*. O menor valor apresentado foi para inoculadas com *R. intraradices* (Rootella BR[®]).

Com referência a PhiPS2 (Figura 3C), plantas do DH sem inoculação (0,18) e as inoculadas com os FMA *R. clarus* (0,20) e *R. intraradices* (Rootella BR[®]) (0,18) apresentaram os maiores valores médios, enquanto plantas inoculadas com *C. etunicatum* exibiram o menor valor (0,13). No tratamento irrigado não houve diferença entre as plantas. Observando os tratamentos hídricos nas diferentes inoculações, plantas não inoculadas tiveram maior resposta no tratamento irrigado (0,21 para irrigadas e 0,18 para DH), bem como as inoculadas com *C. etunicatum* (0,21 para irrigadas e 0,13 para DH). As inoculadas com *R. clarus* e *R. intraradices* (Rootella BR[®]) não diferenciaram entre os tratamentos hídricos (0,20 para ambos os tratamentos hídricos).

O Coeficiente de extinção não fotoquímico (NPQ) diferiu de maneira isolada para os tratamentos hídricos e de inoculação (Figura 3D). em relação aos tratamentos hídricos, plantas sob DH apresentaram maior valor médio de NPQ. Para os tratamentos de inoculação, plantas controle e inoculadas com *R. clarus* e *C. etunicatum* apresentaram maior valor médio de NPQ. O menor valor foi demonstrado por plantas inoculadas com *R. intraradices* (Rootella BR[®]).

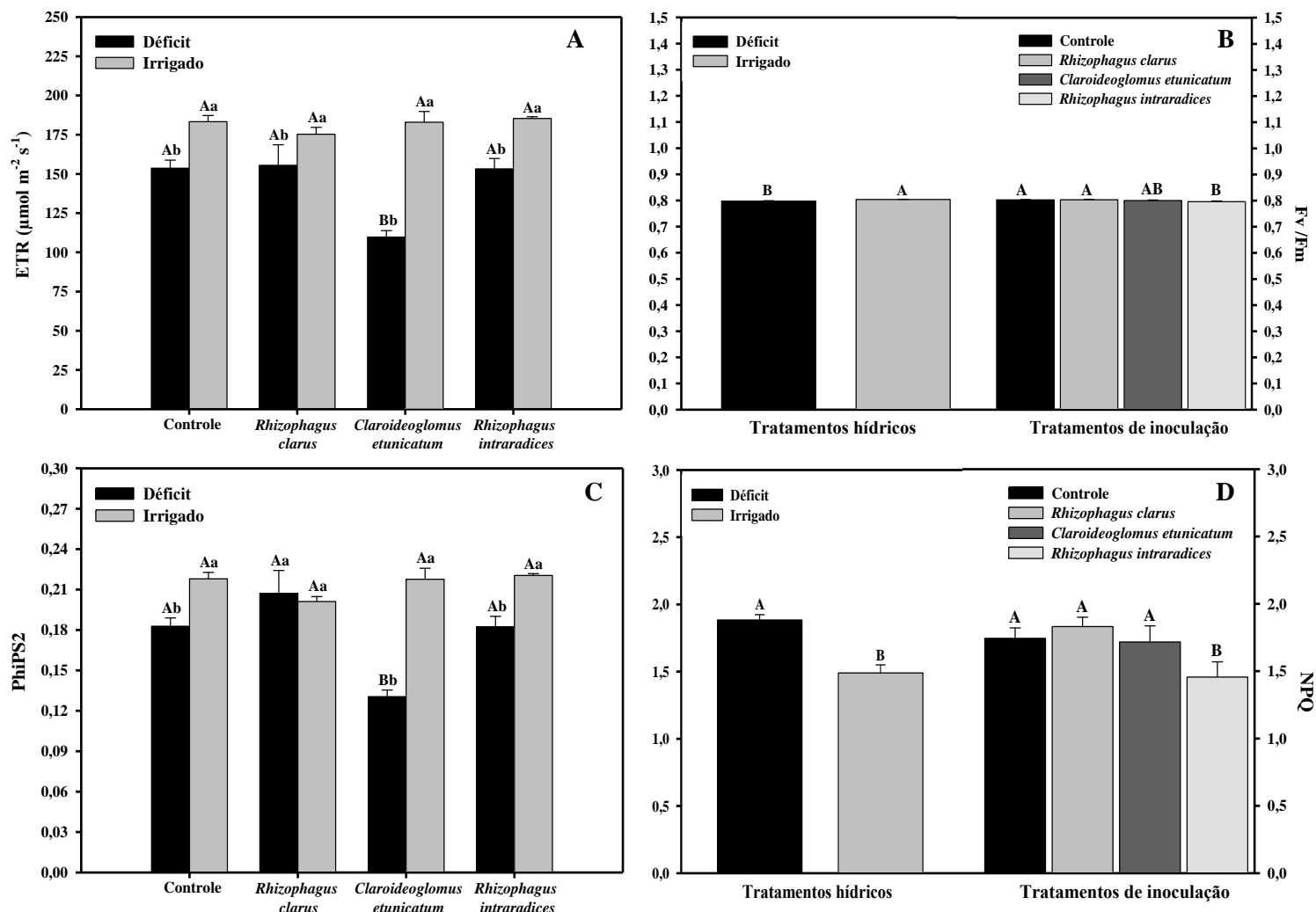


Figura 3. Transporte de elétrons [ETR] (A), rendimento quântico máximo de FS II [Fv/Fm] (B), eficiência fotoquímica efetiva do fotossistema II [PhiPS2] (C) e coeficiente de extinção não fotoquímica [NPQ] (D) de plantas de Milho (*Zea mays*) submetidas a diferentes tratamentos hídricos e inoculação com Fungos Micorrízicos Arbusculares, no período de restrição hídrica. Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre os tratamentos de inoculação e minúsculas entre os tratamentos hídricos, não diferem entre si pelo teste Tukey (5%).

O teor de clorofila *a* (Figura 4A) diferiu entre os fatores de inoculação e tratamento hídrico. No déficit hídrico, o maior teor do pigmento é observado em plantas controle (32,94 mg cm⁻²), inoculadas com *R. clarus* (32,85 mg cm⁻²) e *C. etunicatum* (32,88 mg cm⁻²), enquanto plantas inoculadas com o *R. intraradices* (Rootella BR[®]) tiveram o menor valor médio (32,55 mg cm⁻²). No tratamento irrigado, as plantas não apresentaram diferença. Analisando os tratamentos hídricos dentro de cada nível de inoculação, apenas o tratamento inoculado com *R. intraradices* (Rootella BR[®])

apresentou diferença, em que as plantas do déficit hídrico tiveram menor valor do que plantas irrigadas. O teor de clorofila *b* não apresentou diferença entre os tratamentos de inoculação e hídrico. A razão Cla/Clb (Figura 4B) diferiu apenas entre os tratamentos de inoculação, em que o maior valor médio foi para plantas sem inoculação, mas não diferiu das inoculadas com *R. clarus* e *C. etunicatum*. O menor valor médio foi para inoculadas com *R. intraradices* (Rootella BR[®]).

O teor de clorofilas totais (Cl_t) diferiu entre os tratamentos (Figura 4C). para o tratamento hídrico de DH, apenas as inoculadas com *R. intraradices* (Rootella BR[®]) diferiu, apresentando menor valor médio de Cl_t. No tratamento irrigado, o maior valor médio foi para plantas não inoculadas, mas não diferiu das inoculadas com *R. clarus* e *R. intraradices* (Rootella BR[®]), enquanto o menor valor foi para as inoculadas com *C. etunicatum*. Observando os tratamentos hídricos dentro das diferentes inoculações, apenas as não inoculadas e inoculadas com *R. intraradices* (Rootella BR[®]) diferiu, no qual as irrigadas foram maiores que as de DH. O teor de carotenoides (Figura 4D) também diferiu apenas entre os tratamentos de inoculação. Plantas inoculadas com *R. clarus* foram as que tiveram maior valor médio (9,23 mg cm⁻²), porém não diferiram de plantas sem inoculação (9,20 mg cm⁻²). O menor teor de carotenoide foi observado nas inoculadas com *C. etunicatum* e *R. intraradices* (Rootella BR[®]), com valor médio de 9,06 mg cm⁻² para ambos.

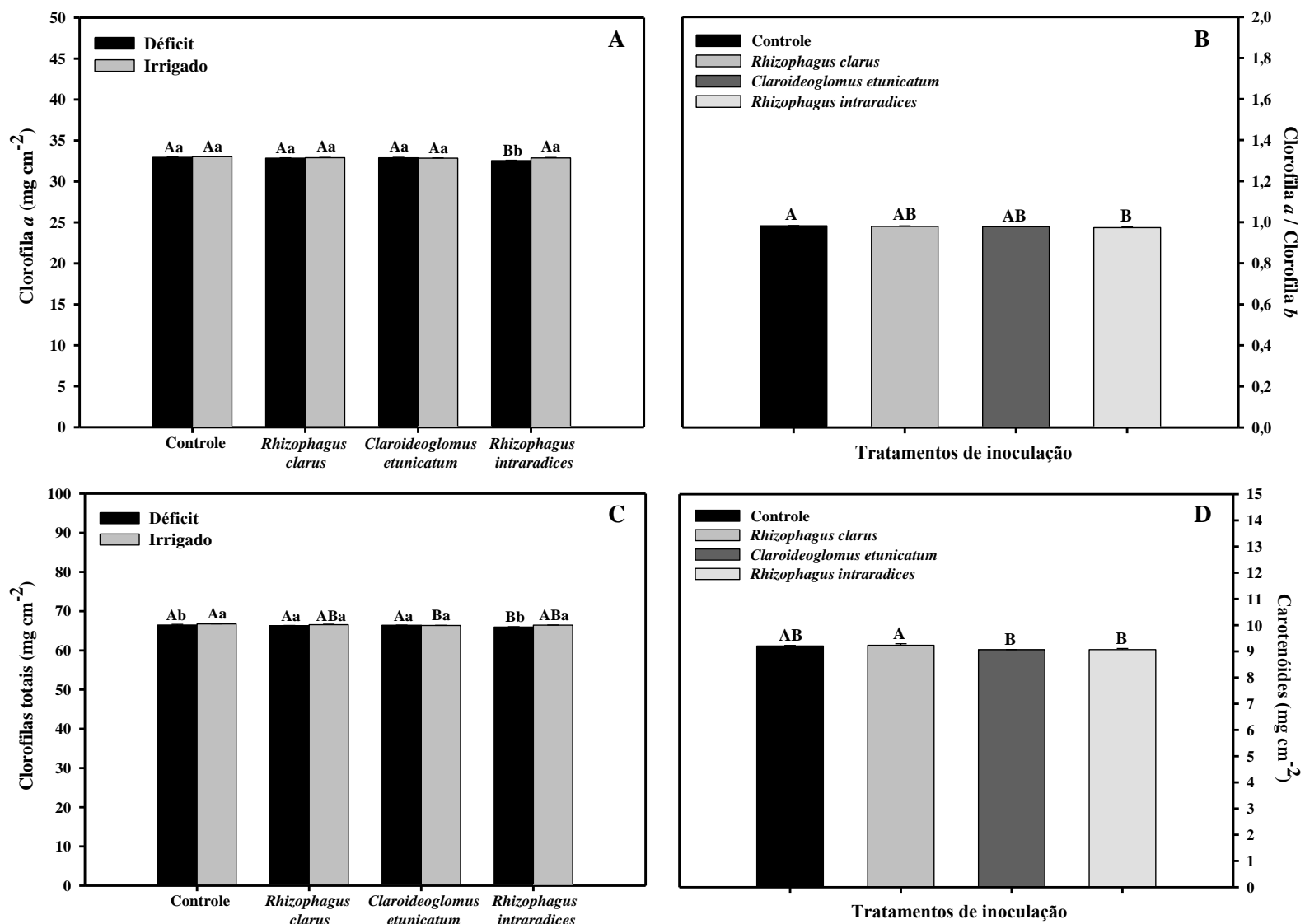


Figura 4: Teores de clorofila a (A), Cla/Clb (B), clorofilas totais (C) e carotenoides (D) de plantas de milho (*Zea mays*) submetidas a diferentes tratamentos hídricos e inoculação com FMA, após reirrigação. Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre os tratamentos de inoculação e minúsculas entre os tratamentos hídricos, não diferem entre si pelo teste Tukey (5%).

A altura (Figura 5A) e diâmetro (Figura 5B) das plantas apresentaram diferença de maneira isolada apenas para os tratamentos hídricos. A altura de plantas do DH foi menor (31,66 cm) do que plantas mantidas sob irrigação (39,83) (Figura 2A). O diâmetro também apresentou a mesma resposta, em que plantas do DH tiveram média de 1,20 cm e plantas irrigadas alcançaram a média de 1,65 cm.

O peso seco das folhas avaliado após a reirrigação diferiu entre os tratamentos (Figura 5C), enquanto plantas do DH não diferiram entre si. Para o tratamento irrigado, plantas inoculadas com *R. clarus* tiveram menor valor médio de peso seco. Analisando os

tratamentos hídricos dentro de cada inoculação foi observado que todas as plantas irrigadas foram maiores que as de DH. O peso seco da raiz diferiu apenas entre os tratamentos hídricos (Figura 5D), no qual as irrigadas foram maiores que as plantas de DH. O peso seco total diferiu entre os tratamentos (Figura 5E). Plantas do DH não diferiram entre si. No tratamento irrigado, as inoculadas com *C. etunicatum* foram as que tiveram maior valor médio de peso seco total, porém não diferiu das inoculadas com *R. intraradices* (Rootella BR[®]) e das não inoculadas. O menor valor de peso seco total foi para as inoculadas com *R. clarus*. Em relação aos tratamentos hídricos dentro das diferentes inoculações, todas as irrigadas foram maiores que as plantas de DH.

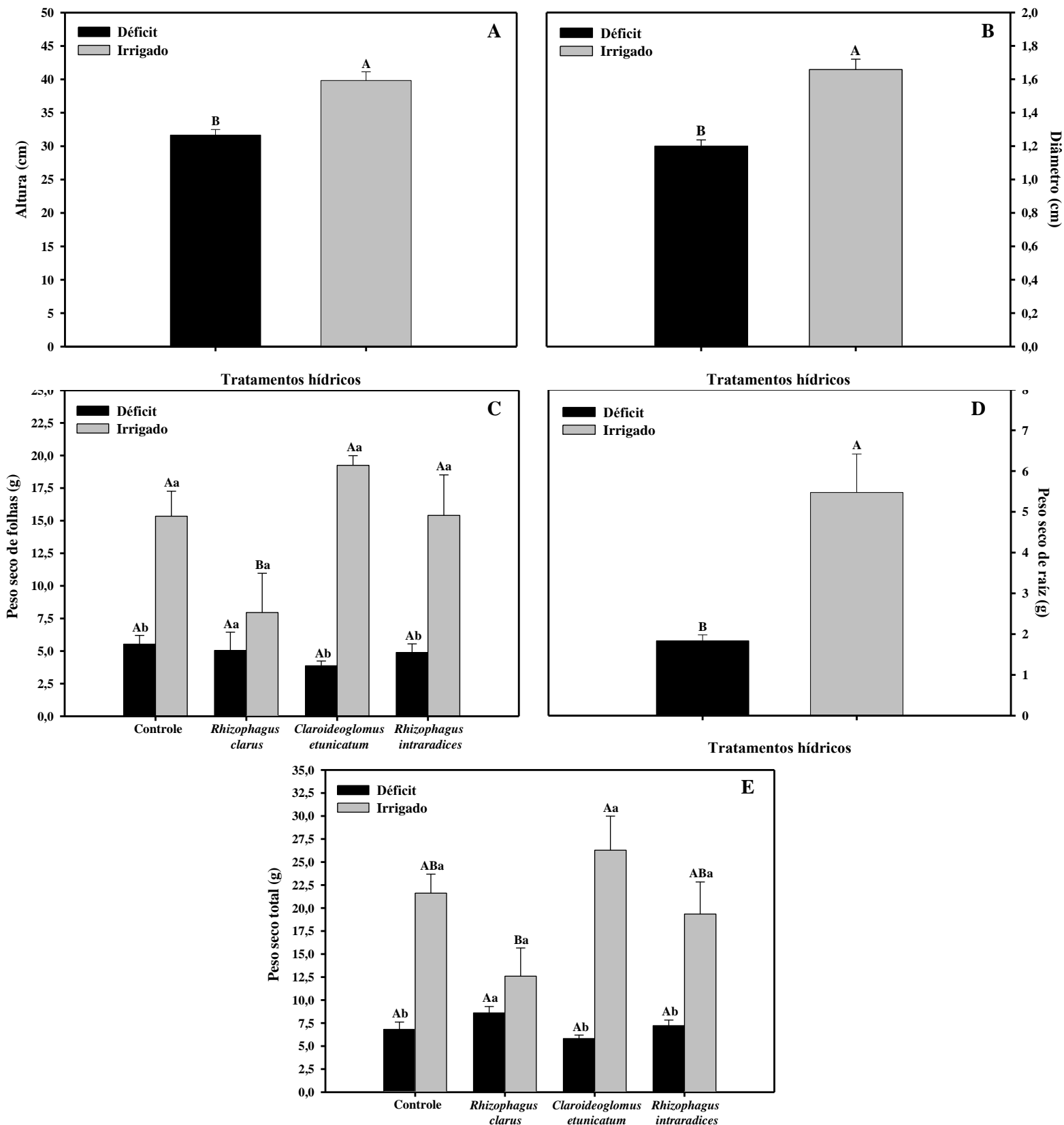


Figura 5: Altura (A), diâmetro (B), peso seco de folhas (C), peso seco de raiz (D) e peso seco total (E) de plantas de milho (*Zea mays*) submetidas a diferentes tratamentos hídricos, após reirrigação. Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula entre os

tratamentos de inoculação e minúsculas entre os tratamentos hídricos, não diferem entre si pelo teste Tukey (5%).

4. DISCUSSÃO

A seca afeta o crescimento da planta, reduzindo o potencial hídrico foliar, a divisão celular (ZHAO et al., 2015) e a capacidade fotossintética da planta. No presente estudo, o potencial hídrico (Ψ_w) das plantas diferiu entre os tratamentos hídricos e de inoculação (Figura 1A). Plantas sob DH não apresentaram diferença entre elas. Já para as irrigadas, o tratamento inoculado com *R. intraradices* (Rootella BR[®]) obteve maior Ψ_w , diferindo das demais. A diminuição do potencial hídrico resulta em baixo turgor celular e na redução da divisão celular (ZHAO et al., 2015), culminando em baixa condutância estomática, afetando diretamente a taxa fotossintética o que resulta em crescimento mais lento das plantas (CHEN et al., 2021).

Observa-se que houve maior número de esporos de FMA em plantas inoculadas principalmente com *C. etunicatum* no tratamento do DH (Figura 1B), entretanto não diferiu das inoculadas com *R. clarus*. No tratamento hídrico irrigado, a maior densidade de esporos foi para plantas do tratamento inoculado com *R. intraradices* (Rootella BR[®]). A colonização micorrízica (Figura 1C), que apresentou diferença apenas nos tratamentos de inoculação, foi maior principalmente em plantas inoculadas com o FMA *C. etunicatum*, mas não diferiu das inoculadas com *R. intraradices* (Rootella BR[®]). Apesar disso, a porcentagem de colonização nas plantas não foi tão alta e essa limitação da colonização da raiz quando a planta se encontra sob déficit hídrico pode ocorrer por várias razões, o que inclui o decréscimo na germinação e crescimento de esporos, diminuição no número de FMA, inibição no crescimento e disseminação de hifas no solo (SALLOUM et al., 2018) e declínio no fornecimento de carboidratos pelas plantas hospedeira (TYAGI et al., 2017). Além disso, alta densidade de esporos pode levar a severa competição por carbono fotoassimilado entre planta hospedeira e FMA pois a simbiose quando em alta quantidade de esporos passa a ser parasitismo (SANTOS et al., 2020).

Observa-se que a fotossíntese de plantas do tratamento de DH (Figura 2A) conseguiu elevar sua taxa fotossintética após o período de estresse, podendo estar relacionado com maior condutância estomática, principalmente em plantas inoculadas com *R. clarus* e *R. intraradices* (Rootella BR[®]) (Figura 2B), e maior transpiração (Figura

2C). A taxa transpiratória apresentou diferença de maneira isolada para tratamentos hídricos e de inoculação (Figura 2C). Nota-se que para as inoculadas com *R. intraradices* (Rootella BR[®]) e com *R. clarus* apresentaram maior valor médio de E , entretanto, não diferiu das inoculadas com *C. etunicatum*.

A desorientação da fotossíntese está associada ao baixo transporte de elétrons através do FSII (ETR) e, ou lesão estrutural do FSII e dos centros de reação (ANTONOGLOU et al., 2018). Porém, logo após a reirrigação, o ETR (Figura 3A) de plantas irrigadas não apresentou diferença. Para plantas que antes estavam submetidas ao DH, a taxa de transporte de elétrons apresentou bom comportamento. Plantas inoculadas com *R. clarus* e *R. intraradices* (Rootella BR[®]), que antes apresentavam os menores valores, conseguiram elevar sua taxa sobressaindo das inoculadas com *C. etunicatum*. Esse mesmo comportamento pode ser observado para PhiPS2 (Figura 3C).

O rendimento quântico máximo de FS II (F_v/F_m) apresentou diferença de maneira isolada para os tratamentos hídricos e de inoculação (Figura 3B), no qual plantas do DH foram menores que plantas irrigadas. Porém, todas elas apresentaram valor médio maior que 0,75 elétrons quantum⁻¹, apontando que as plantas avaliadas não sofreram danos fotoinibitórios. Este valor é apontado como referencial para indicar estresse (MIRSHAD e PUTHUR, 2017).

Segundo alguns autores, quando plantas apresentam valores menores que 0,75 elétrons quantum⁻¹, indicam situação de estresse e redução do potencial fotossintético. Quando os valores variam entre 0,75 e 0,85 elétrons quantum⁻¹, pode sugerir que o aparelho fotossintético não sofreu danos significativos (SANTOS et al., 2010; SUASSUNA et al., 2010). Liu et al. (2015) constataram que choupos (*Populus* spp.) inoculados com o FMA *Rhizophagus irregularis* apresentou tolerância a seca e que o fungo colaborou para que não houvesse declínio no nível de F_v/F_m e qP .

A extinção não fotoquímica (NPQ) que reflete a capacidade de dissipação de calor quando há excesso de energia luminosa, pode reduzir a transferência de energia para os centros de reação, sem qualquer efeito em qP (grau de fechamento do centro de reação) (SIMÓN et al., 2013). No presente estudo, NPQ diferiu de maneira isolada para os tratamentos hídricos e de inoculação (Figura 3D), em que plantas sob DH apresentaram maior capacidade de dissipação de calor. Em relação aos tratamentos de inoculação, *R. clarus* e *R. intraradices* (Rootella BR[®]) apresentaram maior valor médio de NPQ. Um nível alto de NPQ pode decorrer de baixa taxa de transporte de elétrons (ETR), levando ao impedimento da formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) (ROACH et al.,

2020). As EROs podem contribuir diretamente para danos do FSII ou inibir reparos dos centros de reação (KALE et al., 2017) e são formadas através da energia de excitação absorvida de maneira excessiva acarretando comprometimento da função fotossintética, levando ao acúmulo de EROs, resultando em estresse oxidativo (PINTÓ-MARIJUAN e MUNNÉ-BOSCH, 2014). O aumento de NPQ em plantas sob estresse hídrico indica possível diminuição do processo fotossintético e na fixação de CO₂. Esse prejuízo pode diminuir a utilização de produtos do transporte de elétrons, culminando em maior dissipação térmica.

A clorofila *a* se manteve constante, no qual apenas plantas inoculadas com *R. intraradices* (Rootella BR®) sob DH apresentaram taxa menor (Figura 15A). Mathur et al. (2018) observaram em um estudo realizado com trigo (*Triticum aestivum*), que o estresse hídrico reduziu o conteúdo de clorofilas totais em plantas sob DH sem inoculação, porém plantas micorrizadas conseguiram manter seu teor de pigmentos alto, pois essas plantas conseguiram obter mais água por meio de hifas.

Plantas quando se encontram em longo período de estresse acabam perdendo área foliar visando reduzir a transpiração para proteger as plantas de possíveis danos oxidativos causados por área superficial de luz menor, entretanto tais mudanças podem significar menor produção de biomassa (CHEN et al., 2010). A altura (Figura 5A) e o diâmetro (Figura 5B) apresentaram diferença de maneira isolada apenas para os tratamentos hídricos, em que plantas do DH tiveram as menores taxas quando comparadas com as irrigadas.

Percebe-se que plantas sob estresse hídrico possuem menor altura e diâmetro e, conseqüentemente menor peso seco de folhas e raízes, demonstrando que o DH afeta a produção de biomassa. Nota-se que o prejuízo ao status hídrico da planta afeta diretamente o seu crescimento e desenvolvimento. É possível observar que o peso seco das folhas (Figura 5C) e das raízes (Figura 5D) demonstram que plantas do DH apresentaram menor peso do que plantas irrigadas, culminando em menor peso seco total em plantas sob estresse (Figura 5E).

O estresse hídrico pode levar ao rompimento de lipídeos e proteínas de membrana e, eventualmente, a mudanças nas atividades enzimáticas (ZAREI e PAYMANEH, 2014). A permeabilidade da membrana geralmente é avaliada como vazamento de eletrólitos medido através da condutividade elétrica livre e total e é um indicador essencial da saúde da membrana celular das plantas em condições estressantes (DATTA e KULKARNI, 2014). Em plantas cultivadas sob condições de estresse hídrico, a estabilidade da

membrana celular ou dano de membrana é um dos parâmetros mais importantes da resposta das células vegetais e da tolerância às espécies de estresse abiótico e pode ser usado como indicador da integridade da membrana celular das plantas (SILVA et al., 2018). Esse parâmetro pode ser avaliado a partir do vazamento de eletrólitos em plantas submetidas ao estresse hídrico. No presente estudo, a condutividade elétrica livre não apresentou diferença entre os tratamentos hídricos e de inoculação, e pode indicar que não houve danos a membrana celular.

5. CONCLUSÕES

O milho inoculado com os FMA apresentou benefícios no desenvolvimento e na recuperação, isso porque os fungos auxiliaram na tolerância ao período de restrição hídrica através de melhor funcionamento do fotossistema II, levando a melhor rendimento fotossintético. *Rhizophagus clarus* e o inoculante comercial Rootella BR[®] (*Rhizophagus intraradices*), proporcionaram os melhores resultados.

A inoculação com os FMA *Claroideoglossum etunicatum*, *Rhizophagus clarus* e com o inoculante comercial Rootella BR[®] (*Rhizophagus intraradices*) auxiliam as plantas na sua recuperação frente ao estresse ocasionado pela seca.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTONOGLIOU, O.; MOUSTAKA, J.; ADAMAKIS, I. D.; SPERDOULI, I.; PANTAZAKI, A.; MOUSTAKAS, M.; DENDRINOUS-SAMARA, C. Nanobrass CuZn nanoparticles as foliar spray non phytotoxic fungicides. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 10, n. 5, p. 4450-4461, 2018.

BAGHERI, V.; SHAMSHIRI, M.H.; SHIRANI, H.; ROOSTA H. Nutrient uptake and distribution in mycorrhizal pistachio seedlings under drought stress. **Journal of Agricultural Sciences and Technology**, v. 14, p. 1591-1604, 2012.

BAHRAMINIA, M.; ZAREI, M.; RONAGHI, A.; SEPEHRI, M.; ETESAMI, H. Ionic and biochemical responses of maize plant (*Zea mays* L.) inoculated with *Funneliformis mosseae* to water-deficit stress, **Rhizosphere**, v. 16, 2020.

BEGUM, N.; AHANGER, M. A.; SU, Y.; LEI, Y.; MUSTAFA, N. S. A.; AHMAD, P.; ZHANG, L. Improved Drought Tolerance by AMF Inoculation in maize (*Zea mays*) involves physiological and biochemical implications. **Plants**, v. 8, n. 12, p. 579, 2019.

BERGAMASCHI, H.; MATZENAUER, R. O milho e o clima. Emater/RSAscar, 84 p. 2014.

BRAGA, F. M.; FERREIRA, E. A.; CABRAL, C. M.; FREITAS, I. C.; MACIEL, J. C.; FREITAS, M. S. S.; ASPIAZU, I.; SANTOS, J. B.; FERNANDES, L. A.; FRAZÃO, L. A.; SAMPAIO, R. A. Review: Growth of C₃ and C₄ plants in response to different CO₂ concentrations. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 7, p. e33810716701, 2021.

CANAL RURAL. Milho: lavouras de safrinha devem ter perdas de 30% em Rio Verde (GO). 2021. Disponível em: <<https://www.canalrural.com.br/radar/milho-lavouras-de-safrinha-devem-ter-perdas-de-30-em-rio-verde-go/>> Acesso em: 25/06/2021

CHEN, J. W.; ZHANG, Q.; LI X. S.; CAO, K. F. Gas exchange and hydraulics in seedlings of *Hevea brasiliensis* during water stress and recovery. *Tree Physiology*. v. 30, n. 7, p. 876-85, 2010.

DATTA, P.; KULKARNI, M. Arbuscular mycorrhizal colonization enhances biochemical status in and mitigates adverse salt effect on two legumes. **Notulae Science Biology**, v. 6, n. 3, p. 381–393, 2014.

FERGUSON, J. J.; WOODHEAD, S. H. Increase and maintenance of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. In: SCHENCK, N. C. (Ed.). **Methods and principles of mycorrhizal research**. 2nd. ed. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1984. p. 47-58.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

GARG, N.; PANDEY, R.; 2016. High effectiveness of exotic arbuscular mycorrhizal fungi is Journal Pre-proof 21 reflected in improved rhizobial symbiosis and trehalose turnover in *Cajanus cajan* genotypes grown under salinity stress. **Fungal Ecology**, v. 21, p. 57–67, 2016.

GERDEMANN, J. W.; NICHOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. **British Mycological Society Transactions**, v. 446, p. 235-344. 1963.

GHORCHIANI, M.; ETESAMI, H.; ALIKHANI, H. A. Improvement of growth and yield of maize under water stress by co-inoculating an arbuscular mycorrhizal fungus and a plant growth promoting rhizobacterium together with phosphate fertilizers. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 258, p. 59-70, 2018.

GILMORE, A. E. Phycomycetous mycorrhizal organisms collected by open-pot culture methods. **Hilgardia**, v. 39, n. 4, p. 87-105, 1968.

HASHEM, A.; ALQARAWI, A. A.; RADHAKRISHNAN, R.; AL-ARJANI, A. F.; ALDEHAISH, H. A.; EGAMBERDIEVA, D.; ABD ALLAH, E. F. Arbuscular mycorrhizal fungi regulate the oxidative system, hormones and ionic equilibrium to trigger salt stress tolerance in *Cucumis sativus* L. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 25, n. 6, p. 1102-1114, 2018.

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

KALE, R.; HEBERT, A. E.; FRANKEL, L. K.; SALLANS, L.; BRICKER, T. M.; POSPÍŠIL, P. Amino acid oxidation of the D1 and D2 proteins by oxygen radicals during photoinhibition of Photosystem II. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 114, n. 11, p. 2988-2993, 2017.

KOSKEY, R. E.; GEMMA, J. N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. **Mycological Research**, n. 4, v. 92, p. 486-505, 1989.

LIU, T.; SHENG, M.; WANG, C. Y.; CHEN, H.; LI, Z.; TANG, M. Impact of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth, water status, and photosynthesis of hybrid poplar under drought stress and recovery. **Photosynthetica**, v. 53, n. 2, p. 250–258, 2015.

MAHANNA, B.; DENNIS, S.; OWENS, F.; SEGLAR, B.; WIERSMA, D. Silage Zone Manual, second edition. **DuPont Pioneer**, Johnston, IA. 2014. Disponível em:<

https://intelseed.ca/uploads/Silage_Zone_Manual-2017.pdf > Acesso em: 25 de junho de 2021.

MATHUR, S.; SHARMA, M. P.; JAJOO, A. Improved photosynthetic efficacy of maize (*Zea mays*) plants with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) under high temperature stress. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 180, p. 149–154, 2018.

MIRSHAD, P.; PUTHUR, J. Drought tolerance of bioenergy grass *Saccharum spontaneum* L. enhanced by arbuscular mycorrhizae. **Rhizosphere**, vol. 3, n. 1, p. 1-8, 2017.

MORTON, J. B. Problems and solutions for the integration of glomalean taxonomy, sistematic biology and the study of endomycorrhizal phenomena. **Mycorrhiza**, v. 2, p. 97-109, 1993.

PAVITHRA, D.; YAPA, N. Arbuscular mycorrhizal fungi inoculation enhances drought stress tolerance of plants. **Groundwater for Sustainable Development**, v. 7, p. 490–494, 2018.

PETERSON, R. L.; MASSICOTTE, H. B.; MELVILLE, L. H. **Mycorrhizas: Anatomy and Cell Biology**. Wallingford: CABI, 173 p, 2004.

PETRINI, O.; STONE, J.; CARROLL, F. E. Endophytic fungi in evergreen shrubs in western Oregon: a preliminary study. **Canadian Journal of Botany**, v. 60, p. 789-796, 1992.

PHILLIPS, J. M.; HAYMAN, D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 55, n. 1, p. 158-161, 1970.

PINHEIRO, C.; CHAVES, M. Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data? **Journal of Experimental Botany**, v.62, n. 3, p. 869-882, 2011.

PINTÓ-MARIJUAN, M.; MUNNE-BOSCH, S. Photo-oxidative stress markers as a measure of abiotic stress-induced leaf senescence: advantages and limitations. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 14, p. 3845–3857, 2014.

QUIROGA, G.; ERICE, G.; AROCA, R.; ZAMARREÑO, Á. M.; GARCÍA-MINA, J. M.; RUIZ-LOZANO, J. M. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and salicylic acid regulate aquaporins and root hydraulic properties in maize plants subjected to drought. **Agricultural Water Management**, v. 202, p. 271–284, 2018.

ROACH, T.; NA, C.S.; STÖGGL, W.; KRIEGER-LISZKAY, A. The non-photochemical quenching protein LHCSR3 prevents oxygen-dependent photoinhibition in *Chlamydomonas reinhardtii*. **Journal of Experimental Botany**, v. 71, n. 9, p. 2650–2660, 2020.

SALLOUM, M. S.; MENDUNI, M. F.; LUNA, C. M. A differential capacity of arbuscular mycorrhizal fungal colonization under well-watered conditions and its relationship with drought stress mitigation in unimproved vs. Improved soybean genotypes. **Botany**, v. 96, n. 2 p. 135–144, 2018.

SANTOS, C. M.; GONÇALVES, E. R.; ENDRES, L.; GOMES, T. C. A.; JADOSKI, C. J.; NASCIMENTO, L. A.; SANTOS, E. D. Atividade fotossintética em alface (*Lactuca sativa* L.) submetidas a diferentes compostagens de resíduos agroindustriais. **Pesquisa Aplicada e Agrotecnologia**, v.3, n. 3, p.95-102, 2010.

SCHOLANDER, P. F.; BRADSTREET, E. D.; HEMMINGSEN, E. A.; HAMMEL, H. T. Sap Pressure in Vascular Plants: Negative hydrostatic pressure can be measured in plants. **Science**, v. 148, p. 339-46, 1965.

SILVA, J. S.; PINTO, L. A.; FREITAS, M. G.; FEITOSA, A. J. S.; SILVA, C. L.; ALVAREZ-PIZARRO, J. C. Parâmetros morfológicos e fisiológicos de *Brachiaria brizantha* submetida ao déficit hídrico. **Acta Iguazu**, v. 7, n. 5, p. 71-81, 2018.

SIMÓN, I.; DÍAZ-LÓPEZ, L.; GIMENO, V.; NIEVES, M.; PEREIRA, W. E.; MARTÍNEZ, V.; LIDON, V.; GARCÍA-SÁNCHEZ, F. Effects of boron excess in nutrient solution on growth, mineral nutrition, and physiological parameters of *Jatropha curcas* seedlings. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 176, n.2, p.165-174, 2013.

SUASSUNA, J. F.; MELO, A. S. DE; SOUSA, M. S. S.; COSTA, F. S.; FERNANDES, P. D.; PEREIRA, V. M.; BRITO, M. E. B. Desenvolvimento e eficiência fotoquímica em

mudas de híbrido de maracujazeiro sob lâminas de água. **Bioscience Journal**, v.26, n. 4, p.566-571, 2010.

TYAGI, J.; VARMA, A.; PUDAKE, R. N. Evaluation of comparative effects of arbuscular mycorrhiza (*Rhizophagus intraradices*) and endophyte (*Piriformospora indica*) association with finger millet (*Eleusine coracana*) under drought stress. **European Journal Soil Biology**, v. 81, p. 1–10, 2017.

WELLBURN, A. R. The spectral determination of chlorophyll-A and chlorophyll-B, as well as total carotenoids using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal Plant Physiology**, v. 144, n. 3, p. 301–313, 1994.

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

WU, Y.; HUANG, M.; WARRINGTON, D. N. Growth and transpiration of maize and winter wheat in response to water deficits in pots and plots. *Environmental and Experimental Botany*, Paris, v.71, n.1, p.65–71. 2016.

WU, Q. S.; SRIVASTAVA, A. K.; ZOU, Y. N. AMF-induced tolerance to drought stress in citrus: a review. **Scientia Horticulturae**, v. 164, p. 77–87, 2013.

ZAREI, M.; PAYMANEH, Z. Effect of salinity and arbuscular mycorrhizal fungi on growth and some physiological parameters of *Citrus jambheri*. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 60, n. 7, p. 993–1004, 2014.

ZHANG, F.; ZOU, Y. N.; WU, Q. S. Quantitative estimation of water uptake by mycorrhizal extraradical hyphae in citrus under drought stress. **Scientia Horticulturae**, v. 229, p. 132-136, 2018.

ZHAO, R.; GUO, W.; BI, N.; GUO, J.; WANG, L.; 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.

ZOU, Y. N.; WU, H. H.; GIRI, B.; WU, Q. S.; KUČA, K. Mycorrhizal symbiosis down-regulates or does not change root aquaporin expression in trifoliolate orange under drought stress. **Plant Physiology Biochemistry**, v. 144, p. 292-299, 2019.

ZOU, Y. N.; HUANG, Y. M.; WU, Q. S.; HE, X. H. Mycorrhiza-induced lower oxidative burst is related with higher antioxidant enzyme activities, net H₂O₂ effluxes, and Ca²⁺ influxes in trifoliolate orange roots under drought stress. **Mycorrhiza**, v. 25, n. 2, p. 143–152, 2015.

7. MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela 1S. Análise de solo (0-20 cm) antes da instalação do experimento, em Rio Verde, GO.

Ca	Mg	Ca+Mg	Al	H+Al	K	K	S	P (mel)	pH	M.O.
-----cmol _c dm ⁻³ -----					-----mg dm ⁻³ -----			CaCl ₂	g dm ⁻³	
3,64	1,49	5,13	0,00	6,15	0,23	88,00	5,73	2,50	4,78	49,00
Na	Fe	Mn	Cu	Zn	B	CTC	SB	V%	m%	Argila
-----mg dm ⁻³ -----					cmol _c dm ⁻³		Sat. base	Sat. Al	Text (g dm ⁻³)	
1,00	5,68	13,68	1,02	1,51	0,18	11,50	5,36	46,56	0,00	440,00