

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE BIOCÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

SILVIA CAROLINE FARIAS PEREIRA

**RELAÇÃO PLANTA-FUNGOS MICORRÍZICOS EM ÁREAS DE CAATINGA:  
RESPOSTAS À DISPONIBILIDADE HÍDRICA E PERTURBAÇÕES ANTRÓPICAS**

Recife

2020

SILVIA CAROLINE FARIAS PEREIRA

**RELAÇÃO PLANTA-FUNGOS MICORRÍZICOS EM ÁREAS DE CAATINGA:  
RESPOSTAS À DISPONIBILIDADE HÍDRICA E PERTURBAÇÕES ANTRÓPICAS**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Pernambuco requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Biologia Vegetal.

**Área de concentração:** Ecologia e Conservação

**Orientador:** Prof. Dr. Mauro Guida dos Santos

**Coorientadora:** Profa. Dra. Inara Roberta Leal

Recife

2020

Catálogo na fonte:  
Bibliotecária Claudina Queiroz, CRB4/1752

Pereira, Sílvia Caroline Farias

Relação planta-fungos micorrízicos em áreas de caatinga: respostas à disponibilidade hídrica e perturbações antrópicas / Sílvia Caroline Farias Pereira - 2020.

84 folhas: il., fig., tab.

Orientador: Mauro Guida dos Santos

Coorientadora: Inara Roberta Leal

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal. Recife, 2020.

Inclui referências, apêndice e anexo.

1. Fungos 2. Micorriza 3. Condições edáficas

I. Santos, Mauro Guida dos (Orientador) II. Leal, Inara Roberta (Coorientadora) III. Título

579.5 CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2020-125

SILVIA CAROLINE FARIAS PEREIRA

**RELAÇÃO PLANTA-FUNGOS MICORRÍZICOS EM ÁREAS DE CAATINGA:  
RESPOSTAS À DISPONIBILIDADE HÍDRICA E PERTURBAÇÕES ANTRÓPICAS**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Biologia Vegetal.

APROVADA EM 18/02/2020

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Mauro Guida dos Santos (1º membro titular)  
(Universidade Federal de Pernambuco)

---

Profa. Dr. Hiram Marinho Falcão (2º membro titular)  
(Universidade de Pernambuco)

---

Prof. Dr. André Luiz Alves de Lima (3º membro titular)  
(Universidade Federal Rural de Pernambuco)

---

Dra. Indra Escobar (4º membro titular)  
(Universidade Federal de Pernambuco)

---

Dra. Fernanda Maria Pereira de Oliveira (5º membro titular)  
(Universidade Federal de Pernambuco)

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a todos que participaram da execução desta Tese:

A UFPE pela toda estrutura física. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão das bolsas de estudos no Brasil e no exterior. A CAPES e o PROBRAL pelo financiamento do Doutorado Sanduíche.

Aos meus orientadores Mauro dos Santos por todo apoio, paciência, suporte e oportunidades dados a mim nessa caminhada, e Inara Leal pela contribuição indispensável nesse trabalho, por toda paciência, ensinamentos e por ser um exemplo de pesquisadora. Aos Professores do PPGBV por todo o conhecimento repassado, em especial ao Professor Marcelo Tabarelli que me auxiliou desde o projeto até o produto final dessa tese. Outro agradecimento especial está direcionado a Bettina Engelbrecht e a Bayreuth Universität pela acolhida na Alemanha durante Estágio Sanduíche.

Agradeço aos meus colegas do Laboratório de Fisiologia Vegetal pelo apoio durante os trabalhos de bancada e casa de vegetação, que não foram fáceis. Ainda, aos meus amigos de jornada que foram um grande pilar de apoio nesse tempo: Silvia Santos, Lucas Costa, Laís Lima, Camila Miranda, Bruno Lustosa e Fernando Sena. E aos vários outros que eu encontrei no caminho, principalmente Daniele Kulka e Pedro Sena que foram muito importantes, tornando os dias de campo mais leves. Mas especialmente ao meu amigo Lucas Costa que é uma pessoa inspiradora e que nessa última fase de escrita foi um grande motivador para que eu chegasse até o fim; e que juntamente com Laís e nosso pequeno grupo de estudo dos desesperados, tornaram meus dias mais produtivos.

Por fim, agradeço a minha mãe, minha irmã, meu marido e minha família pelo amor, paciência e incentivo constante em todos os momentos da minha vida.

## RESUMO

A maioria dos ecossistemas naturais restantes do mundo está sujeita a altos níveis de perturbações antrópicas crônicas e agudas, representando uma grande ameaça aos ecossistemas naturais. Especialmente em florestas tropicais sazonalmente secas (FTSS), um bioma em grande risco, há um interesse crescente em entender como os impactos desses regimes de perturbações podem interagir com os das mudanças climáticas, uma vez que esses dois fatores podem provocar a degradação de grandes áreas de florestas, diminuir sua produtividade e dificultar sua regeneração. Nesta tese, abordamos os efeitos da perturbação antrópica crônica na relação entre espécies lenhosas de plantas e fungos micorrízicos arbusculares (FMA), agregando aspectos químicos do solo e fisiológicos das plantas em um contexto de mudanças climáticas na Caatinga. A Caatinga é um mosaico de floresta tropical sazonalmente seca e vegetação xerófitas, decídua e arbustiva no nordeste do Brasil. Os FMA são micro-organismos que realizam simbiose com as plantas e são capazes de conferir vantagens competitivas às suas hospedeiras quanto a captação de água, nutrientes e resistência à seca. A área de estudo foi o Parque Nacional do Catimbau (uma região de Caatinga), e partir da seleção de parcelas com diferentes níveis de precipitação e índice de perturbação humana nós avaliamos a colonização micorrízica nas raízes de plantas lenhosas abundantes na área, e pudemos verificar que a acidez no solo e o nível de precipitação média são capazes de moldar a resposta da simbiose. Ainda, testamos a inoculação por FMA em plantas jovens diante de um estresse hídrico agudo e ainda como ferramenta de baixo custo que auxilia o estabelecimento das mudas em campo, visando agregar às técnicas de manejo para recuperação de áreas humanamente degradadas. Observamos que a adição de propágulos cultivados confere certa vantagem na recuperação de um estresse hídrico agudo, imposto em condições controladas. Contudo, por menor que seja a presença de propágulos viáveis no solo da Caatinga, sua multiplicação e potencial de associação são eficientes. Assim, esses resultados mostram o papel fundamental do FMA no ecossistema, mas estudos a longo prazo ainda se fazem necessários para avaliar os impactos das secas prolongadas nessa interação simbiótica.

**Palavras-chave:** Condições edáficas. Eficiência de colonização. Interações ecológicas. Mudanças climáticas. Mutualismo.

## ABSTRACT

Most of the world's remaining natural ecosystems are subjected to high levels of chronic and acute anthropogenic disturbances, posing a major threat to natural ecosystems. Especially in dry seasonal tropical forests (FTSS), a high risk biome, there is an increasing interest in understanding how the impacts of these disturbance regimes might interact with climate change since these two factors can cause the degradation of large areas of forest, decrease their productivity and make regeneration difficult. In this thesis, we address the effects of chronic anthropogenic disturbance on the relationship between woody plant species and mycorrhizal fungi (AMF), aggregating soil chemical and plant physiological aspects in a context of climate change in Caatinga. Caatinga is a mosaic of seasonally dry tropical forest and xerophytic, deciduous and shrub vegetation in northeastern Brazil. AMF are microorganisms that perform symbiosis with plants and are able to confer competitive advantages to their hosts regarding water uptake, nutrients and drought resistance. The study area was the Catimbau National Park (a Caatinga region), and from the selection of plots with different precipitation levels and human disturbance index we evaluated the roots mycorrhizal colonization of abundant woody plants in the area, and we could verify that soil acidity and mean rainfall are able to shape the symbiosis response. In addition, we tested FMA inoculation in young plants in the face of acute water stress and as a low-cost tool that helps to establish seedlings in the field, aiming at adding management techniques for the recovery of humanly degraded areas. We observe that the addition of cultured propagules confers a certain advantage in the recovery from acute water stress imposed under controlled conditions. However, no matter how small the viable propagules may be in the Caatinga soil, their multiplication and potential for association are efficient. Thus, these results show the FMA's fundamental role in the ecosystem, but long-term studies are still needed to assess the impacts of prolonged droughts on this symbiotic interaction.

**Keywords:** Edaphic conditions. Efficient colonization. Ecological interactions. Climate change. Mutualism.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....</b>	<b>10</b>
2.1	PERTURBAÇÕES ANTRÓPICAS E MUDANÇAS CLIMÁTICA .....	10
2.2	RESTAURAÇÃO ECOLÓGICA ASSISTIDA .....	11
2.3	SIMBIOSE PLANTAS–FUNGOS MICORRÍZICOS ABUSCULARES (FMA) .....	12
2.4	FLORESTAS SECAS .....	15
2.4.1	Desertificação .....	17
<b>3</b>	<b>O PAPEL DOS FMA NO DESENVOLVIMENTO E ESTABELECIMENTO DE PLANTAS JOVENS LENHOSAS NO CENÁRIO DE REDUÇÃO DE DISPONIBILIDADE HÍDRICA EM UMA FLORESTA TROPICAL SAZONALMENTE SECA .....</b>	<b>18</b>
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>49</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>50</b>
	<b>APÊNDICE A – ARTIGO PUBLICADO NA FOREST ECOLOGY AND MANAGEMENT .....</b>	<b>55</b>
	<b>ANEXO A – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO .....</b>	<b>84</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As perturbações antrópicas e as mudanças climáticas são os dois principais impulsionadores do declínio da biodiversidade em todo o mundo (PECL *et al.*, 2017; TILMAN *et al.*, 2017). A perda de habitat tem impactos óbvios na biodiversidade, afetando processos ecológicos importantes como diminuição da diversidade taxonômica (RITO *et al.*, 2017) e alterações na composição funcional de plantas (SFAIR *et al.*, 2018). Nesse contexto, a utilização de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) têm se mostrado importantes mitigadores de estresses sofridos pelas plantas e por isso são considerados uma ferramenta na recuperação de áreas degradadas, pois além de ser de baixo custo, a simbiose entre FMA e plantas pode ser encontrada em várias espécies vegetais (CAVALCANTE *et al.*, 2009). Cerca de 80% das plantas terrestres realizam interação simbiótica com fungos micorrízicos arbusculares (BRUNDRETT, 2002; SMITH; READ, 2008). O estudo das comunidades de FMA em ambientes naturais, submetidos a diferentes agentes estressores, pode fornecer informações importantes acerca da relação entre a presença desses fungos e as espécies vegetais que conseguem tolerar o efeito de perturbação do habitat.

As Florestas Tropicais Sazonalmente Secas (FTSS) se inserem em um grupo de risco quando se trata de conservação, pois são nos trópicos onde se concentram as atividades humanas para fins tradicionais e comerciais, com diferentes práticas e dinâmicas de uso da terra fazendo com que sua densidade populacional seja alta (CHAZDON *et al.*, 2009). As FTSS são classificadas como um dos biomas mais importantes do mundo e compreendem 42% das florestas tropicais do globo, abrangendo áreas na América do Sul, América Central, Austrália, Índia, Sudeste da Ásia, Caribe e dois cinturões paralelos na África (MILES *et al.*, 2006; PENNINGTON *et al.*, 2009). Estas florestas estão cada vez mais alteradas e susceptíveis a danos causados por esses fatores que diminuem sua resiliência (BRODIE *et al.* 2012; SANTOS *et al.*, 2014; POORTER *et al.*, 2016). Atrelado a isso, previsões indicam que essas regiões serão ainda mais impactadas por mudanças climáticas com o passar dos anos devido a aumentos de temperatura e duração e severidade dos períodos de seca (IPCC, 2014).

Para regiões como a Caatinga (representante das FTSS no Brasil) as alterações climáticas já são perceptíveis nas irregularidades das chuvas, e as previsões de mudança para os próximos anos incluem aumento na temperatura e no CO<sub>2</sub> atmosférico e diminuição da precipitação. Dentro desse cenário, a previsão é que parte do semiárido se torne árido, um futuro nada otimista (IPCC, 2014). Neste processo, algumas espécies podem desaparecer por não suportarem as novas condições climáticas. Além disso, grande parte do território da

Caatinga está ameaçado pelas atividades de caça, agricultura, pecuária e extrativismo (LUCENA *et al.*, 2007), e mesmo assim, ainda são poucas as Unidades de Conservação para esse ecossistema (ESPÍRITO-SANTO *et al.*, 2009). Estima-se que cerca de 20% da Caatinga esteja em processo de desertificação, principalmente causado pela ação antrópica (SANTOS *et al.*, 2011). A associação das plantas com o FMA é capaz de aumentar a tolerância das plantas a diversos tipos de agentes estressores, principalmente o déficit hídrico, o maior limitante da produtividade vegetal na Caatinga, favorecendo o desenvolvimento da planta em condições de seca (AUGÉ, 2001). Contudo, estudos sobre práticas de manejo para manutenção e recuperação dessas áreas são relevantes.

Dentro desse contexto, essa tese buscou entender o papel dos fungos micorrízicos arbusculares (FMA) ao longo de gradientes de perturbação antrópica crônica e precipitação na Caatinga. Para tanto, buscamos verificar dentre espécies abundantes da comunidade vegetal, as que se associam aos FMA e a taxa de colonização nas plantas dentro dos gradientes citados. E ainda, verificar se há favorecimento no desenvolvimento de plantas jovens de uma espécie abundante na região, previamente inoculada com FMA e submetida a estresse hídrico agudo e também inserida no campo, ao longo do gradiente de precipitação.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 PERTURBAÇÕES ANTRÓPICAS E MUDANÇAS CLIMÁTICAS

As atividades humanas são causas majoritárias de perda de biodiversidade no planeta; o homem é capaz de causar efeitos diretos e indiretos nos ecossistemas naturais. Na classe dos efeitos diretos temos uma série de mudanças na cobertura vegetal como a agricultura, exploração madeireira, conversão de florestas em pastos para a pecuária, caça e comércio da vida selvagem, entre outros (MALHI *et al.*, 2014; BÜRGI *et al.*, 2017). Indiretamente essas ações são refletidas no aumento na incidência de incêndios, interferência nas dinâmicas populacionais de animais e plantas, introdução de espécies exóticas, deposição de nitrogênio da atmosfera para sistemas aquáticos e terrestres, mudanças no clima, como temperatura e precipitação, e mais incontáveis outras intervenções (BÜRGI *et al.*, 2017). Ainda dentro da categoria de atividades humanas, podemos destacar as perturbações antrópicas crônicas. Essas são perturbações consideradas comuns em países em desenvolvimento, pois se caracteriza por remoções pequenas dos recursos florestais, em geral para subsistência (SINGH, 1998). Esse tipo de perturbação, mesmo com pouco destaque na paisagem, acarreta danos consideráveis, como a diminuição da diversidade taxonômica (RITO *et al.*, 2017) e alterações na composição funcional de plantas (SFAIR *et al.*, 2018). A influência do homem nos ecossistemas é tão marcante que atualmente estudos relatam que entramos na era do Antropoceno, que se refere ao período atual onde os impactos provocados pelo homem são onipresentes (MALHI *et al.*, 2014).

Assim, existem duas principais causas de perda de biodiversidade provocada pelo homem que são as induções das mudanças climáticas e a perda de habitats (TRAVIS, 2003). A perda de habitat acaba levando à fragmentação das paisagens, o que desconecta populações e diminui o fluxo gênico, reduzindo a dinâmica da população (BASCOMPTE; SOLÉ, 1996; FRECKLETON; WATKINSON, 2002; ALAGADOR *et al.*, 2012). A agricultura, por exemplo, surge como um grande e inevitável problema que altera florestas para a produção de alimentos, devido a isso esta atividade está entre as mais impactantes no meio ambiente (LAURENCE; SAYER; CASSMAN, 2013).

Segundo Brodie *et al.* (2012) a combinação entre ações antrópicas e alterações ambientais podem ser potencialmente devastadoras, pois as ações humanas são capazes de moldar os impactos das mudanças climáticas sobre a biodiversidade. Diferentes eventos climáticos já estão ocorrendo, e muitos deles devido às emissões de gases do efeito estufa (GEE) na atmosfera por origem antrópica. De acordo com o painel intergovernamental de

mudanças climáticas (IPCC), diversos ecossistemas irão sofrer drásticas mudanças em alguns fatores ambientais nos próximos anos; locais de clima seco tenderão a ser mais secos, bem como locais úmidos tenderão a ser mais úmidos (FILHO *et al.*, 2014; LAURENCE; SAYER; CASSMAN, 2013). O último relatório do IPCC, divulgado em 2014, trouxe uma síntese de diversos estudos, e através deles foram construídos modelos climáticos que revelaram quatro cenários climáticos possíveis que poderemos enfrentar nos próximos anos. O cenário mais pessimista do estudo tem grandes chances de ser a realidade, caso nada mude nas emissões dos GEE. Nele a previsão de variação climática apresentada para o nordeste brasileiro, no ano de 2050, é de um aumento na temperatura de até 2,5 °C, redução da precipitação em até 35%, combinado com um aumento global de CO<sub>2</sub> atmosférico que poderá atingir 550 ppm. No ano de 2100 espera-se um panorama ainda pior, com condições ainda mais difíceis, com um aumento de temperatura de até 4,5 °C, redução da precipitação de até 50% combinados com um CO<sub>2</sub> atmosférico global de até 850 ppm (IPCC, 2014). Diante de tudo isso, é possível que algumas espécies sejam drasticamente afetadas; uma a cada seis espécies corre risco de extinção devido às mudanças climáticas (URBAN, 2015). A taxa prevista de extinção é de cerca de 8% das espécies devidos aos efeitos das mudanças climáticas, mas é importante mencionar que o número de espécies afetadas por essas alterações ambientais e que estão foram na lista de risco é muito maior (URBAN *et al.*, 2015). Quando consideramos as regiões, a América do Sul esta é a que corre o mais alto risco (23%), comparada a outras regiões, o que torna o cenário ainda mais preocupante considerando seu alto índice de espécies endêmicas (URBAN, 2015). As florestas são mais sensíveis às mudanças climáticas, porque a vida longa de árvores não permite uma rápida adaptação a mudanças ambientais.

Já foi relatado que a perda de habitats e as mudanças climáticas podem agir de forma sinérgica e resultar numa combinação desastrosa para as florestas mais vulneráveis (TRAVIS, 2003). Assim, a tendência é que essas mudanças do uso da terra além de extinguir várias espécies, muitas delas endêmicas, levem a perda das interações ecológicas e por consequência dos serviços ecossistêmicos que elas oferecem (BUSTAMANTE *et al.*, 2019).

## 2.2 RESTAURAÇÃO ECOLÓGICA ASSISTIDA

Como já foram mencionados, muitos eventos são responsáveis pelo declínio da extensão das florestas tropicais, assim, atualmente as florestas degradadas cobrem uma grande parte do planeta (SHONO *et al.*, 2007). Esses danos geram consequências como perda de serviços ecológicos e de bens florestais (LAMB *et al.*, 2005). Assim, há a necessidade de restaurar áreas, visando recuperar suas funções ambientais e seu valor de biodiversidade, e

devido a barreiras (físicas, químicas e biológicas) causadas pela degradação muitas dessas áreas precisam de intervenção humana para iniciar esse processo (SHONO *et al.*, 2007). As áreas variam quanto a sua capacidade de auto recuperação e desenvolvimento sucessional (LAMB *et al.*, 2005). Ambientes com comunidade vegetal residual apresentando riqueza de espécies, banco de sementes e mudas tem sua sucessão favorecida. Porém, nem sempre a área ‘fornece’ essas vantagens que facilitam a recuperação, então grande parte dos esforços para recuperação de áreas se concentram em inserir novos indivíduos no sistema.

A restauração ativa com espécies de sucessão tardia é importante em ambientes com banco de semente empobrecidos, solo pobre em nutrientes, alta radiação solar, alta taxa de predação de sementes e outros fatores que impedem a recolonização dessas espécies, dessa forma diminui os riscos de uma sucessão secundária com uma floresta pobre, que é dominada por espécies pioneiras por décadas (PEÑA-DOMENE *et al.*, 2013). Mas para isso é necessário conhecimento das melhores ferramentas de manejo e seleção de espécies de forma a obter sucesso (LAMB *et al.*, 2005). Entretanto, a principal limitação dessas técnicas são os altos custos necessários para a produção das plantas. A crescente demanda dessas práticas levou a urgência na determinação e aprimoramento dessas formas de plantio. Porém, é necessária pesquisa experimental para determinar o caminho mais adequado e promissor para a restauração e antes de iniciar é preciso ter em mente as melhores espécies para o processo, além de considerar ambientes com fontes externas de propágulos para garantir uma diversidade biológica e processo ecológico ao longo dos anos (SOUZA; BATISTA, 2004).

Uma grande proporção de pesquisas sobre propagação de plantas se concentram em espécies da família Fabaceae, por ser a família mais importante nas florestas tropicais decíduas devido a sua representatividade em número de espécies e ocorrência (BONFIL; TREJO, 2010). Sua importância também pode ser explicada pelo fato de existirem muitas fabaceas sucessionais precoces, que obtêm sucesso nas condições adversas encontradas em locais perturbados, além de muitas delas possuírem associações com fungos micorrízicos e bactérias fixadoras de nitrogênio (BONFIL; TREJO, 2010).

### 2.3 SIMBIOSE PLANTAS–FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES (FMA)

O mutualismo é uma interação ecológica entre dois organismos onde há benefícios mútuos entre os parceiros, e todas as espécies do mundo estão, de alguma forma, envolvidas nesse tipo de parceria (BRONSTEIN *et al.*, 2004; BASCOMPTE, 2019). Os mutualistas tem um papel fundamental na sobrevivência dos ecossistemas e fornece serviços indispensáveis aos organismos, como polinização, dispersão de sementes, ciclagem de nutrientes, entre

outros (KIERS *et al.*, 2010). Apesar das vantagens claras dessas conexões estreitas entre os mutualistas, existem desvantagens quando se trata de mudanças globais que podem resultar em efeitos generalizados em toda rede; ainda, efeitos das atividades antrópicas também são capazes de reduzir os benefícios dos mutualismos de forma crônica, mediando vários níveis tróficos (KIERS *et al.*, 2010).

O mutualismo simbiótico é muito comum na natureza e muitos micro-organismos que estão presentes no solo e na rizosfera desenvolvem associações com as plantas formando tais interações simbióticas, como é o caso de alguns fungos e bactérias, que auxiliam as plantas a sobreviver no ambiente (JEFFRIES *et al.*, 2003; ALGUACIL *et al.*, 2011). Dentro do primeiro grupo destacamos as micorrizas, associações simbióticas entre plantas e fungos (CAVALCANTE *et al.*, 2009). Nesse grupo temos os fungos micorrízicos arbusculares (FMA), incluídos no filo Glomeromycota, e que constituem complexas associações, denominadas micorrizas arbusculares, caracterizadas pela formação de estruturas intra e extrarradiculares (PORCEL; AROCA; RUIZ-LOZANO, 2012). A simbiose com fungos micorrízicos arbusculares é bem ampla no reino vegetal, sendo a associação micorrízica a mais comum, significativa e difundida em espécies terrestres (JEFFRIES *et al.*, 2003; HODGE; STORER, 2014), ocorrendo em aproximadamente 80% das plantas. Na simbiose com a planta hospedeira, o fungo recebe mais de 10% dos fotoassimilados produzidos (CAVALCANTE *et al.*, 2009). Os FMAs são cosmopolitas, podendo ser encontrados em diversos ecossistemas ambientais. O filo Glomeromycota possui 230 espécies descritas, distribuídas em cinco ordens (Archaeosporales, Diversisporales, Glomerales, Gigasporales e Paraglomerales) e 29 gêneros (OEHL *et al.*, 2011).

Os FMAs são, na sua maioria, simbiontes obrigatórios e tem um reconhecido papel nos ecossistemas, por beneficiarem as plantas associadas e serem determinantes da biodiversidade vegetal, da variabilidade ecossistêmica e da produtividade (VAN DER HEIJDEN *et al.*, 2008), além de contribuírem para o condicionamento físico geral da planta (BONFANTE; DESIRÒ, 2015). O FMA favorece a absorção de nutrientes pela planta (principalmente fósforo) com auxílio das hifas (PORCEL; AROCA; RUIZ-LOZANO, 2012). A presença do FMA pode auxiliar a planta a prosperar em condições semiáridas, aumentando a oferta de nutrientes, a produtividade e a resistência a estresses, além de melhorar a estrutura do solo em áreas erodidas (CARAVACA *et al.*, 2003; KAFKAS; ORTAS 2009; BONFANTE; DESIRÒ, 2015). Além do favorecimento da captação de fósforo os FMAs ainda são capazes de captar nitrogênio a partir de suas fontes inorgânicas e transferir parte

para o seu hospedeiro, apesar das vias bioquímicas exatas ainda não serem totalmente conhecidas pela ciência (HODGE; STORER, 2014).

Estudos têm mostrado os efeitos da associação com FMA em diferentes espécies vegetais, lenhosas ou herbáceas (RAUSCH *et al.*, 2001; ZANGARO *et al.*, 2007; FROSI *et al.*, 2016; BARROS *et al.*, 2018). Em condições de déficit hídrico, por exemplo, estudos sugerem mecanismos pelos quais a simbiose com o FMA pode aliviar o estresse hídrico em algumas espécies, incluindo o ganho e a transferência da água através da hifa para a planta (HARDIE, 1985; RUIZ-LOZANO; AZCÓN, 1995a), mudanças nas propriedades de retenção da água no solo (AUGÉ, 2001), melhor ajustamento osmótico (AUGÉ *et al.*, 1992; KUBIKOVA *et al.*, 2001; RUIZ-LOZANO *et al.*, 1995a), ganhos nas trocas gasosas, eficiência do uso da água (AUGÉ *et al.*, 1992; RUIZ-LOZANO *et al.*, 1995a, 1995b; FROSI *et al.*, 2016), e ainda, proteção dos danos oxidativos gerados pela seca (PORCEL; RUIZ-LOZANO, 2004; PORCEL *et al.*, 2003; RUIZ-LOZANO *et al.*, 2001). Um exemplo interessante de como os FMAs favorecem o crescimento de plantas pode ser visto em Caravaca *et al.* (2003), onde espécies arbustivas inoculadas com FMA, introduzidas numa região semiárida mediterrânea em solo abandonado após cultivo agrícola, apresentaram ganho de biomassa da ordem de 500% em relação às plantas não inoculadas.

As mudanças climáticas como o aumento de temperatura e o prolongamento de secas provocam alterações semelhantes na composição, abundância e atividade das comunidades microbianas do solo (COMPANT *et al.*, 2010). Porém, o déficit hídrico é um dos grandes responsáveis pela redução do desenvolvimento da planta de uma forma geral, consequentemente afeta a alocação de fotossintatos que são enviados para rizosfera e isso reflete na formação do micélio extrarradicular e ainda em todos os benefícios que eles podem oferecer (COMPANT *et al.*, 2010). As mudanças climáticas em áreas semiáridas trazem consequências ambientais como a degeneração do solo, que pode levar à diminuição da atividade microbiana e reduzir a diversidade de FMA nesse solo (HERRERA *et al.*, 1993; ALGUACIL *et al.*, 2011). A perturbação da comunidade de plantas de uma região também resulta em perda das propriedades físico-químicas e biológicas do solo que incluem estrutura, disponibilidade de nutrientes, teor de matéria orgânica e atividade microbiana. A simbiose micorrízica, devido a coevolução entre as plantas e o fungos, é fundamental da produtividade e diversidade dos ecossistemas naturais, como já foi mencionado, ou seja, o FMA tem um papel ecológico significativo (JEFFRIES *et al.*, 2003). Um impacto ou perturbação desse relacionamento pode causar consequências preocupantes na comunidade vegetal, seja por

alteração da simbiose que já está desenvolvida, seja pela perda ou diminuição dos propágulos fúngicos disponíveis no solo. Tudo isso pode diminuir a quantidade de nutrientes que é absorvido pelas plantas e ainda afetar a fertilidade do solo, ameaçando toda homeostase do ecossistema (JEFFRIES *et al.*, 2003). Por fim, microbiota simbiote do solo é capaz de influenciar marcadamente o funcionamento geral das florestas, principalmente aqueles associados às raízes que são responsáveis por explorar nutrientes que favoreçam o crescimento das plantas (STEIDINGER *et al.*, 2019). Em se tratando da simbiose planta-FMA os efeitos das mudanças globais podem ser em variáveis, mas os efeitos negativos do uso da terra provocam alterações da estrutura das comunidades micorrízicas, principalmente se associados a composição nutricional (P e N) do solo, que tende a reduzir a colonização de plantas (MUMMEY; RILLIG, 2006; OPIK *et al.*, 2006; TYLIANAKIS *et al.*, 2008).

#### 2.4 FLORESTAS SECAS

As florestas tropicais sazonalmente secas (FTSS) ocorrem em regiões tropicais e são caracterizadas pela sazonalidade pronunciada na distribuição da precipitação, que resulta em vários meses de seca (MOONEY; BULLOCK; MEDINA, 1995). Nessas regiões áridas e semiáridas, a vegetação está condicionada ao déficit hídrico, que está diretamente relacionado à seca causada pela irregularidade das chuvas, temperaturas elevadas e alta intensidade luminosa que, juntos, aumentam a demanda evaporativa da vegetação e do solo (TROVÃO *et al.*, 2007; SOUZA *et al.*, 2010). Essas florestas são dependentes de seu período de chuvas, esses regimes hídricos são caracterizados por estações chuvosas e secas que ocorrem de forma alternada (ALLEN *et al.*, 2017). A característica principal das florestas tropicais secas é que elas possuem uma longa estação seca (5 a 8 meses) e grande parte da precipitação (cerca de 80%) ocorre durante a estação chuvosa. Essas FTSS apresentam uma precipitação anual que varia de 100 a 1.500 milímetros e uma temperatura média de 25°C (BLACKIE *et al.*, 2014; SÁNCHEZ-AZOFEIFA *et al.*, 2005).

As FTSS compõem 42% das florestas do mundo, 54% delas estão dentro do território da América do Sul, mas grande parte já foi explorada, acredita-se que 97% das florestas tropicais secas estejam sujeitas a degradação e estão expostas a diversas ameaças resultantes das atividades humanas (MILES *et al.*, 2006). Em uma análise de risco realizada por Miles e colaboradores (2006) em FTSS, a América do Sul registrou 37% de ameaça, apenas considerando as mudanças climáticas, devido principalmente pela diminuição da precipitação prevista nos modelos divulgados. Além disso, as regiões tropicais são onde estão

concentradas as grandes preocupações sobre uso da terra e paisagens naturais modificadas devido a práticas humanas dentro de um contexto socioeconômico (CHADZON *et al.*, 2009).

A Caatinga é uma região semiárida, e está na classificação de FTSS devido às condições de alta temperatura e baixa precipitação; é caracterizada por diferentes tipos de vegetação e está distribuída em cerca de 840.000 km<sup>2</sup> dentro do território brasileiro (ALBUQUERQUE *et al.*, 2012). A região apresenta altas intensidades luminosas o ano inteiro, dessa forma a temperatura média anual varia em uma faixa entre 25 e 30 °C; a disponibilidade hídrica é bastante variável devido às chuvas irregulares, concentradas entre 3-5 meses (300 a 800 mm por ano) com períodos longos de seca (GARIGLIO *et al.*, 2010). Esses fatores ambientais combinados a outros causam o alto índice de evapotranspiração do solo e dos vegetais (SOUZA *et al.*, 2010; TROVÃO *et al.*, 2007). A vegetação é composta de árvores e arbustos xerófilos de clima tropical, podendo ser frondosa com uma copa fechada e baixa ou esparsa e mais aberta, de acordo com a umidade do solo. A respeito das dificuldades encontradas pelas espécies vegetais em condições severas de um ambiente como a Caatinga, as plantas são capazes de apresentar uma série de adaptações fisiológicas, anatômicas, morfológicas e de história de vida que irão garantir a capacidade das plantas de manter um status hídrico adequado para a sobrevivência e reprodução (RIEDERER; SCHREIBER, 2001).

A Caatinga está localizada em quase toda sua totalidade na região semiárida do Nordeste do Brasil e há séculos tem suas plantas nativas sendo extraídas para utilização, devido às propriedades medicinais e posterior uso da terra em pastagens e agricultura; suporta 23 milhões de pessoas, em uma densidade demográfica de 26 hab km<sup>-1</sup>, representando uma pressão intensa sobre o ecossistema, onde a exploração não sustentável predomina entre a maioria das famílias do meio rural (INSA, 2012). Essa demanda de utilização é maior que a recuperação natural da vegetação, resultando em fragmentação de habitat, que por sua vez tem influência na diversidade biológica, com um saldo de mais de 50% de remoção da cobertura original da floresta (LUCENA *et al.*, 2007). Os recursos extraídos são em grande parte oriundos do uso para subsistência da população local; quase 200.000 km<sup>2</sup> de áreas naturais de Caatinga foram substituídas por culturas agrícolas e/ou pastagens, e a madeira das plantas nativas, constantemente removida, são utilizadas como carvão para uso doméstico e industrial (SAMPAIO, 2002). Dessa forma, essa é uma região com aspectos sociais e econômicos bastante delicados que envolvem as comunidades de pessoas que residem na região (LUCENA *et al.*, 2007).

### 2.4.1 Desertificação

Secas prolongadas causadas pelas mudanças climáticas associadas ao aumento populacional e exploração, conversão e fragmentação da terra vem provocando processos de desertificação que vem alterando características importantes de fenologia, fotossíntese e crescimento (BUSTAMANTE *et al.*, 2019). Dentro das práticas de uso do solo a agricultura é a mais comum e tradicional, principalmente o cultivo de corte e queima (TOMASELLA *et al.*, 2018). Com isso o ambiente tem a necessidade de passar por um tempo de pousio, que idealmente seria de 40 anos (ARAÚJO FILHO *et al.*, 2013), contudo a pressão antrópica diminuiu esse tempo para 10 anos. Esse conjunto de fatores transforma a Caatinga em um mosaico de fragmentos de florestas com diferentes idades de regeneração (TOMASELLA *et al.*, 2018).

Em síntese, a degradação do solo de Caatinga é causada principalmente pelo manejo e exploração desenfreada e sem gerenciamento que além exaurir os recursos, em conjunto com a seca severa, ainda afetam a resiliência do ecossistema (VIEIRA *et al.*, 2015; TOMASELLA *et al.* 2018). Isso coloca o semiárido brasileiro em um cenário com estágio avançado de desertificação (SOUSA *et al.*, 2012), onde, definir alternativas para reduzir a suscetibilidade à degradação dessa região, mudando as práticas de gestão de forma que haja um uso mais sustentável da terra é fundamental (VIEIRA *et al.*, 2015).

ARTIGO A SER SUBMETIDO À ECOLOGICAL ENGINEERING

---

**O PAPEL DOS FMA NO DESENVOLVIMENTO E  
ESTABELECIMENTO DE PLANTAS JOVENS LENHOSAS NO  
CENÁRIO DE REDUÇÃO DE DISPONIBILIDADE HÍDRICA EM UMA  
FLORESTA TROPICAL SAZONALMENTE SECA**

## **Fungo micorrízico arbuscular e robusto sistema radicular podem suportar a performance de espécie lenhosa em áreas de floresta tropical sazonalmente seca com diferente disponibilidade hídrica**

Silvia Pereira <sup>a,b</sup>, Mariana Santos <sup>a</sup>, Inara Leal <sup>b</sup>, Marcelo Tabarelli, Mauro Santos <sup>b,\*</sup>

<sup>a</sup> Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil

<sup>b</sup> Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901 Recife, Pernambuco, Brasil

### **RESUMO**

As mudanças climáticas associadas a grande pressão demográfica são fatores que apresentam fortes ameaças para os ecossistemas como as florestas tropicais sazonalmente secas (FTSS). No Brasil, a FTSS, Caatinga, sofre as consequências desses fatores, que associados estão levando a um crescimento preocupante na extensão de áreas em processo de desertificação. Porém, alguns microorganismos como os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são aliados das plantas no que se refere a tolerar e superar fatores estressantes. Nesse trabalho buscamos verificar o papel do FMA no desenvolvimento e estabelecimento de plantas jovens de *Cenostigma microphyllum*, inoculadas previamente com um pool de FMA previamente selecionados na FTSS e, expostas a condições de déficit hídrico agudo (em condições de hidratação controladas) e crônico (em condições de campo) na Caatinga. O trabalho foi realizado no Parque Nacional do Catimbau, e dividido em duas partes (experimento em condições controladas e experimento em condições de campo). As mudas foram produzidas com e sem inóculo fúngico cultivado, inseridos no momento da semeadura. Em condições controladas as plantas foram submetidas a um estresse hídrico agudo. No segundo experimento as mudas foram cultivadas em viveiros e transferidas para parcelas ao longo de um gradiente de precipitação. Foram mensurados trocas gasosas, eficiência do uso da água e biomassa em ambos os experimentos. Nossos resultados mostraram que o fungo cultivado é capaz de conferir vantagens às plantas submetidas a um déficit hídrico agudo no início do seu ciclo de vida. Contudo, durante o estresse crônico a que foram submetidas em campo as plantas não apresentam respostas diferentes entre si, nesse caso o gradiente de precipitação guia os mecanismos de resposta da planta. Com isso vimos que a utilização de solo local com propágulos nativos é a solução mais eficiente e economicamente viável para auxiliar o estabelecimento de mudas em áreas sob ameaças de degradação.

**Palavras-chave:** Caatinga, FMA, interações ecológicas, trocas gasosas, reflorestamento, restauração ecológica.

## 1 INTRODUÇÃO

As alterações no clima já são perceptíveis no mundo, na irregularidade das chuvas, no aumento da temperatura, ou na redução da disponibilidade hídrica em determinadas regiões (Santos et al. 2014; Allen et al. 2017; Rito et al., 2017; IPCC, 2019). O cenário global das mudanças climáticas aponta que regiões afetadas pelo aumento da aridez são as mais vulneráveis do planeta (Vieira et al. 2015), como por exemplo, as florestas tropicais sazonalmente secas (FTSS). As FTSS se inserem em um grupo de risco quando se trata de conservação, pois são nos trópicos onde se concentram as atividades humanas para fins tradicionais e comerciais, com diferentes práticas e dinâmicas de uso da terra (Chazdon et al., 2009). Essa grande pressão demográfica associada às alterações do clima levam ao aumento da desertificação em algumas regiões (Marengo e Bernasconi, 2015; IPCC, 2019).

No Brasil as áreas que estão enfrentando o processo de desertificação passam dos 1.340.000 km<sup>2</sup>, todas elas em regiões semiáridas e subúmidas secas, estando concentradas em regiões do Nordeste do país (i.e., 70%), mais especificamente na Caatinga (CGEE, 2016). Categorizada como uma das FTSS mais extensa e diversa do mundo, a Caatinga é um dos ecossistemas mais ameaçados do Brasil (Silva et al., 2017). Esse ecossistema ocupa uma área de 912.529 km<sup>2</sup> e é uma das regiões semiáridas mais populosas do mundo, com mais de 28 milhões de pessoas que utilizam seus recursos como fonte de subsistência (Silva et al., 2017; Tabarelli et al., 2018). A exploração intensa desse ecossistema ainda pode ser intensificada pelas mudanças climáticas que preveem reduções na precipitação de até 30%, aumentando assim, a duração e agravando as secas no semiárido nordestino (Silvia et al., 2017; Tabarelli et al., 2018). Um dos temas mais discutidos em fóruns de políticas ambientais no mundo é a restauração ecológica. Nas últimas décadas diferentes metas para recuperação de áreas degradadas ao redor do mundo foram impostas, entretanto, diversas experiências de

restauração mostram que o sucesso esperado não é alcançado sendo que outras falham completamente (Thomas et al. 2014; Asmelash et al. 2016).

Os efeitos do ambiente degradado juntamente com as condições climáticas sobre plantas jovens durante o processo de restauração ecológica podem ser mitigados pela associação de espécies vegetais com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) (Ma et al., 2019; Giri e Saxena, 2017; Azimi et al., 2019). Os FMA possuem um reconhecido papel nos ecossistemas, podem ser encontrados em cerca de 80% das espécies vegetais terrestres e beneficiam os hospedeiros, sendo determinantes na biodiversidade vegetal, variabilidade ecossistêmica e produtividade (Van der Heijden et al. 2008; Cavalcante et al. 2009; Asmelash et al., 2018, Koziol et al., 2018). Esses microrganismos tem uma importante função na tolerância a estresses em condições limitantes, principalmente no que se refere a escassez de água (Liu et al., 2015; Ouledali et al., 2018; Bahadur et al., 2019). A inoculação por FMA eleva as vantagens competitivas das plantas. Tais como, aumento da captação de água, manutenção do turgor celular, ajustamento osmótico, absorção de nutrientes e manutenção das trocas gasosas (Bárzana et al., 2012; Liu et al., 2015; Manaut et al., 2015; Ouledali et al., 2018; Bahadur et al., 2019). Além disso, o melhoramento das respostas enzimáticas para redução do acúmulo de espécies reativas de oxigênio (Zhang et al., 2019).

Portanto, a inoculação de FMA pode ser crucial para o estabelecimento das plantas diante de condições de estresse hídrico, seja ele agudo ou crônico (Asmelash et al., 2016). O uso do FMA se apresenta como uma ferramenta de baixo custo que melhoraria a desempenho das plantas, podendo fazer parte de estratégias mais amplas para combater os problemas de áreas degradadas (Santos et al. 2014; Manaut et al., 2015). Diante do exposto, o objetivo do nosso estudo foi verificar se há favorecimento no desenvolvimento de plantas jovens de uma espécie lenhosa, inoculadas previamente com FMA e expostas a condições de estresse hídrico agudo (em condições de hidratação controladas) e crônico (em condições de campo). Para

isso, um tratamento de plantas foi inoculado com duas espécies de fungos previamente selecionados por serem comuns em solos de ambientes semiáridos. Nossa hipótese é de que a inoculação micorrízica possa ajudar plantas lenhosas a tolerarem secas severas do ambiente, melhorando sua performance via redução dos impactos do déficit hídrico, como a manutenção do conteúdo hídrico dos tecidos da planta e maior rapidez de recuperação no início das chuvas. . Também hipotetizamos que sob condições de campo as plantas inoculadas previamente com o pool de esporos pré-selecionados terão vantagens quanto ao ganho de biomassa em relação àquelas plantas cultivadas sem intervenção de inóculos externos ao solo natural de Caatinga. Desse modo, espera-se que plantas inoculadas apresentarão melhor desempenho ecofisiológico e maior ganho de biomassa, comparadas às plantas não inoculadas.

## **2 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 ÁREA DE ESTUDO**

O estudo foi realizado na Caatinga um mosaico de florestas tropicais sazonais secas e vegetação arbustiva com chuvas irregulares (Silva et al., 2017). Nosso cenário foi o Parque Nacional Catimbau, uma protegida de 607 km<sup>2</sup> no nordeste do Brasil. A região apresenta clima do tipo semiárido BSh, com transição para o tipo tropical chuvoso As', de acordo com o sistema de Köppen. No Catimbau a pluviosidade média anual pode variar de 1100 mm no sudeste a 480 mm no noroeste, apresentando uma temperatura média anual de 23°C (Rito et al., 2017). O solo da área é majoritariamente de areia de quartzito com baixa estatura (até 12 m) (Rito et al., 2017). Medidas de precipitação histórica dos últimos 15 anos e mensal foram coletadas no banco de dados digital da Agência Pernambucana de Águas e Clima (APAC) em duas estações de áreas nas adjacências do Parque Nacional do Catimbau, sendo uma delas ao

norte, representando as regiões mais secas do parque (estação Ibimirim - 14) e a outra ao sul, representando as regiões mais úmidas (estação Buíque - 145).

## 2.2 MATERIAL VEGETAL

Foi escolhida a espécie *Cenostigma microphyllum* (Mart. ex G.Don) E. Gagnon & G. P. Lewis, como modelo de estudo por ser uma espécie vegetal abundante na área, ser popularmente utilizada em recuperação de áreas e ainda, fazer parte da família Fabaceae, muito comum em áreas de Caatinga e que conhecidamente fazem associação com FMA (Bonfil e Trejo, 2010; Frosi et al., 2016b).

## 2.3 TÉCNICA PARA PRODUÇÃO DE MUDAS E POSTERIOR TRANSFERÊNCIA PARA O CAMPO

A técnica utilizada para a produção das mudas é denominada OmniVerdi Riza®, que consiste no crescimento da muda dentro de um saco de tecido permeável (75 cm de comprimento, 4,5 cm de diâmetro), que por sua vez são acomodados dentro de canos de PVC de 1 m para dar suporte. OmniVerdi Riza® é uma técnica que possibilita a produção de mudas com raízes longas que, no caso de transferência para o campo, podem ser plantadas a uma profundidade de 1 m, o que proporciona um solo numa zona mais favorável, com menor temperatura e maior disponibilidade de água e nutrientes. O dano mecânico às raízes também é evitado pelo saco impermeável e degradável que é inserido juntamente com a muda, facilitando o plantio. A técnica também facilita a logística de transporte das mudas para o campo, uma vez que podem ser deitadas e empilhadas e também pesam menos de 1,5 kg (dependendo do substrato).

As plantas cresceram a pleno sol e foram diariamente hidratadas com a capacidade de pote (350 ml). Uma vez por mês, ao longo do tempo de crescimento, cada planta recebeu 10

ml de solução nutritiva de Hoagland modificada. O substrato utilizado foi coletado na área de estudo. Todas as plantas utilizadas nos experimentos tinham cinco meses de crescimento.

### 2.3 INOCULAÇÃO DAS PLANTAS

As sementes foram adquiridas através Rede de Sementes do Projeto de Integração do São Francisco da Universidade Federal do Vale do São Francisco (NEMA/UNIVASF). As sementes foram embebidas por uma hora e então semeadas nos sacos de tecido citados no item 2.2.

Foram produzidas 300 mudas de *C. microphyllum*, destas, 150 plantas inoculadas manualmente, e 150 sem adição de inóculo (daqui por diante chamadas de plantas ‘inoculadas’ e ‘controle’, respectivamente). As plantas cresceram em blocos rotativos de tratamentos durante cinco meses. O solo inóculo contendo propágulos fúngicos foi inserido em cada saco de muda no ato da semeadura. As espécies de fungo escolhidas foram *Acaulospora longula* Spain & N.C. Schenck e *Claroideoglonus etunicatum* (W.N. Becker & Gerd.) C. Walker & A. Schüßler, FMAs comumente encontrados em regiões semiáridas (Silva et al., 2014). Foram inseridos cerca de 1000 esporos por saco, aproximadamente 420 de *A. longula* e 600 de *C. etunicatum*. E o conjunto de plantas produzido foi utilizado para a realização de dois experimentos independentes.

### 2.4 DESENHO EXPERIMENTAL

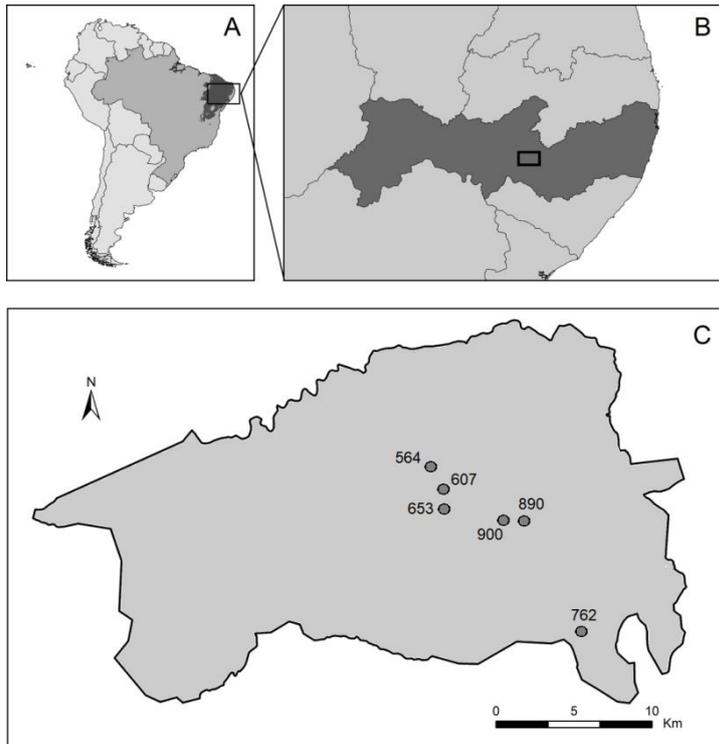
#### 2.4.1 Primeiro experimento – condições controladas

O primeiro experimento foi realizado para a verificação da eficiência micorrízica dos fungos diante de um estresse hídrico agudo nas plantas, dessa forma também verificamos a tolerância da *C. microphyllum* ao déficit hídrico agudo.

Foram determinados quatro tratamentos, com 5 plantas cada: 1) Inoculado hidratado (Inoc+H<sub>2</sub>O), 2) Inoculado seco (Inoc-H<sub>2</sub>O), 3) Controle hidratado (Cont+ H<sub>2</sub>O), 4) Controle seco (Cont-H<sub>2</sub>O). O tratamento inoculado se refere às plantas que receberam solo inóculo na sua produção e o tratamento controle às plantas que não receberam adição de propágulos. O tratamento hidratado é composto pelas plantas que foram diariamente hidratadas com a capacidade de pote ao longo do experimento e o tratamento seco se refere às plantas que tiveram sua rega suspensa durante o experimento. Após 21 dias de seca foi considerado o máximo estresse através da análise do conteúdo hídrico das plantas, assim, se seguiu mais dois dias de reidratação e o experimento foi finalizado com a coleta do material vegetal no 23º dia. Ao longo do experimento foram mensurados altura e diâmetro do caule das plantas como proxy para avaliação de crescimento das mudas.

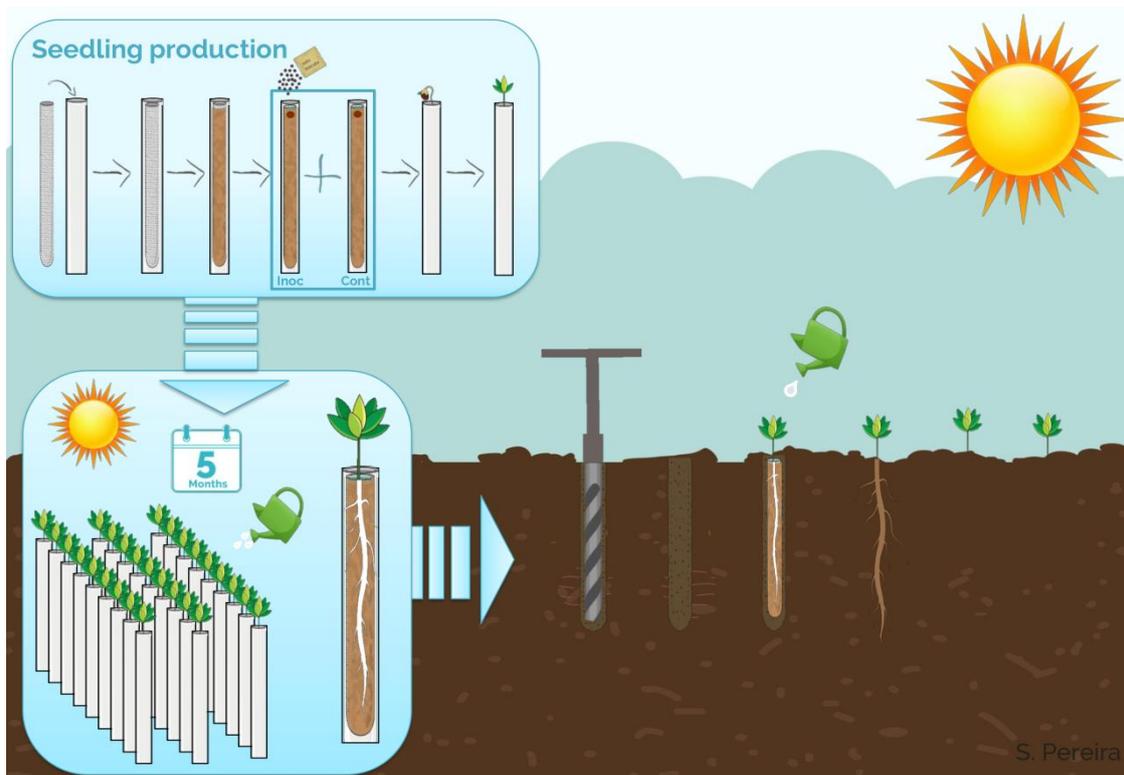
#### **2.4.2 Segundo experimento – condições de campo**

Aqui verificamos a eficiência do FMA no estabelecimento das plantas jovens em campo em seis parcelas previamente estabelecidas pelo projeto ecológico de longa duração (PELD/CNPq – 403770/2012-2) selecionadas em um gradiente de precipitação que variou de 564 a 900 mm no Parque Nacional do Catimbau (Fig. 1). As parcelas possuem uma área de 20×20m e são cercadas para evitar o contato de grandes herbívoros com a vegetação. As mudas foram transplantadas em covas de um metro de profundidade separadas por pelo menos 75 cm de distância. Os sacos permeáveis foram removidos dos canos de PVC e inseridos nas covas, antes de cobri-los com o solo, dois litros de água foram adicionados.



**Fig. 1.** Região de estudo no nordeste do Brasil (A) e a paisagem de estudo (retângulo) no estado de Pernambuco (área sombreada em B). Limites do Parque Nacional Catimbau com as 6 parcelas de estudo representadas pelos pontos (C). Os números em (C) representam a precipitação média anual em mm para cada parcela.

O mês de março de 2019 foi o momento do ano escolhido para o transplante das mudas para o campo por ter sido um mês de muitas chuvas na área. Dessa forma o solo estaria mais propício para as mudas, principalmente nas áreas mais secas (<690 mm). Foram transplantadas 15 mudas por tratamento por parcela. Após esse processo todas as plantas foram marcadas e identificadas de acordo com seu respectivo tratamento (Controle e Inoculadas) (Fig. 2).



**Fig. 2.** Produção e plantio de mudas de *Cenostigma microphyllum* em áreas de Caatinga.

Sacos permeáveis de 75 cm foram utilizados para o crescimento das mudas e posicionados dentro de canos de PVC de 1 m para manter a estrutura ereta e permitir o crescimento de raízes longas. Os sacos foram cheios com solo natural da Caatinga e as sementes foram postas para germinar e dois tratamentos foram definidos: 1) tratamento inoculado, que teve a adição de solo inóculo contendo duas espécies de fungos micorrízicos arbusculares (FMA), *Claroideoglomus etunicatum* e *Acaulospora longula*; 2) tratamento controle, onde não houve adição de inóculos externos ao solo natural. As plantas cresceram a pleno sol com hidratação ideal por cinco meses. Após esse tempo as plantas foram levadas a campo e covas de 1m foram cavadas. As mudas foram inseridas juntamente com o saco de forma que as raízes não sofressem danos mecânicos. Antes da cobertura da cova 2L de água foram adicionados, e assim, as plantas passaram a crescer em ambiente natural.

## 2.5 PARÂMETROS ANALISADOS

### 2.5.1. Conteúdo hídrico relativo (CHR)

Para a verificação do conteúdo hídrico relativo (CHR) do primeiro experimento, três folíolos foram coletados às 05h00, de cinco plantas por tratamento. Após a coleta esses folíolos foram imediatamente pesados em uma balança analítica (modelo AND - HR-200) para obtenção do peso fresco. Posteriormente, foram embebidos em água deionizada por 24h

e novamente pesados para obtenção do peso túrgido, logo em seguida a pesagem os folíolos foram levados para uma estufa de ventilação e condicionados por 48h a 70° C, e então pesados novamente para aquisição do peso seco. Essa análise foi realizada cinco vezes ao longo do experimento em intervalos de cinco dias. O Conteúdo Hídrico Relativo (CHR) foi dado pela fórmula:  $CHR = ((\text{peso fresco} - \text{peso seco}) / (\text{peso túrgido} - \text{peso seco})) \times 100$ .

### **2.5.2 Crescimento e biomassa**

Medidas de altura e diâmetro do caule foram realizadas com auxílio de régua e paquímetro, respectivamente, para avaliação do crescimento das plantas ao longo dos experimentos.

Ao fim do experimento as plantas foram coletadas para avaliação de biomassa. A parte aérea (PA) e as raízes (R) de cinco indivíduos de cada tratamento foram coletadas e separadas em envelopes de papel, que foram colocados em estufa para secagem a 70° C durante 72h. Posteriormente esse material foi pesado para obtenção do peso seco e da relação raiz / parte aérea (relação R/PA).

### **2.5.3 Trocas gasosas e déficit de pressão de vapor (DPV)**

No primeiro experimento as medidas de trocas gasosas foram realizadas no 21° dia (no máximo estresse), com 24h e 48h após a reidratação às 14h30. No segundo experimento, as medidas foram realizadas após um mês do transplante (30 dias) e novamente após quatro meses do transplante (90 dias). As medidas foram realizadas com o analisador de gases do infravermelho (IRGA) (ADC, modelo LCI, Hoddesdon, UK) em folhas completamente expandida e sadias de 5 plantas por tratamento. Os seguintes parâmetros foram mensurados: assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (*A*), condutância estomática (*g<sub>s</sub>*) e transpiração (*E*). A eficiência do uso da água (EUA) foi obtida pela relação de *A/E*. O fluxo de fótons fotossintéticos foi determinado através da radiação solar global no momento da mensuração, o qual foi fixado

durante todo o horário de medida, variando entre 1000 e 1400  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , cinco plantas de cada tratamento foram utilizadas. A umidade do ar e a temperatura foram medidas em paralelo as medidas de trocas gasosas por meio de um termo higrômetro digital. A partir dessas medidas o DPV foi calculado usando a fórmula  $[e - e_s]$  de acordo com Campbell e Norman (1998) ao longo do experimento.

## 2.6 INFECTIVIDADE DO SOLO

O solo utilizado como substrato na produção das mudas não foi esterilizado, pois como teste de técnica prática e de baixo custo para restauração, a esterilização de um grande montante de solo se torna logística e economicamente inviável. Assim, a capacidade de infectividade do solo utilizado foi verificada. Onde, cinco amostras de solo foram coletadas aleatoriamente, acondicionadas em sacos herméticos e transportadas para laboratório. Os esporos de aproximadamente 100 g das amostras de solo coletadas foram extraídos por peneiramento úmido (Gerdemann e Nicolson, 1963). Em seguida as amostras foram centrifugadas em solução de sacarose 50% (Jenkins, 1964). O número de esporos foi contado diretamente sob um estereomicroscópio com ampliação de 40-100  $\times$  e convertido em número de esporos por g de solo.

Após cinco meses de crescimento das mudas e antes do início dos experimentos cinco plantas de cada tratamento, inoculado e controle, foram coletadas para verificação da colonização radicular. A frequência de colonização das raízes dos FMA no nível das espécies foi estimada através da coleta das raízes, que foram triadas em raízes finas e mantidas em álcool a 50%, até o processamento posterior. As raízes foram clarificadas com KOH a 10% (p / v) por 24 h em temperatura ambiente, lavadas com água destilada e coradas com azul de Tripán (p / v) por 1h (Koske e Gemma, 1989, modificado). Em seguida, duas lâminas por indivíduo foram montadas com 25 fragmentos de raiz cada, cada fragmento com 0,01 m

(totalizando 50 cm de comprimento de raiz por indivíduo), para análise em microscópio com aumento de 40x (Giovannetti e Mosse, 1980). Fragmentos de raízes com qualquer estrutura de FMA (isto é, arbusculos, vesículas ou hifas) foram designados como colonizados (Frosi et al., 2016a). A frequência de colonização foi calculada como  $F = n/N \times 100$ , onde  $n$  é o número de fragmentos colonizados e  $N$  é o número total de fragmentos. Assim, obteve-se uma frequência de colonização por indivíduo.

## 2.7 CARACTERIZAÇÃO DO SOLO

Atributos do solo de cada parcela foram previamente analisados seguindo o protocolo de análises agronômicas da Embrapa (1997). A caracterização química pode ser vista abaixo (Tabela 1).

**Tabela 1.** Nutrientes do solo (M.O – matéria orgânica, N – nitrogênio, P – fósforo, pH e K – potássio) e média histórica de precipitação das parcelas analisadas no Parque Nacional do Catimbau.

Parcelas (mm)	M.O (g kg)	N (g kg)	P (mg dm <sup>3</sup> )	pH (em H <sub>2</sub> O)	K (cmolc dm <sup>3</sup> )
762	20,69	0,86	9	5,7	0,05
890	5,52	0,26	4	4,9	0,05
900	7,07	0,33	7	5,5	0,05
653	12,52	0,5	6	5	0,07
607	3,52	0,16	5	5,3	0,06
564	8,79	0,37	5	5,3	0,04

## 2.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

No primeiro experimento para testar a contribuição da inoculação prévia com FMA diante do estresse agudo foi utilizada uma ANOVA de medidas repetidas, onde as variáveis explanatórias foram os tratamentos (Cont+H<sub>2</sub>O, Cont–H<sub>2</sub>O, Inoc+H<sub>2</sub>O, Inc–H<sub>2</sub>O), e as variáveis respostas foram os parâmetros analisados de conteúdo hídrico, trocas gasosas e eficiência do uso da água (EUA). Os resultados de biomassa foram comparados com uma

ANOVA dois fatores, e para ambas análises, as diferenças significativas foram comparadas utilizando o teste de Student Newman-Keuls ( $p < 0,05$ ).

No segundo experimento utilizamos uma MANOVA aninhada para comparar os parâmetros de trocas gasosas entre os dois tempos de coleta (30° e 90° dia), os tratamentos e as parcelas (i.e., diferentes níveis de precipitação); e modelos lineares generalizados mistos (GLMM) para testar o efeito direto do gradiente de precipitação sob as variáveis resposta considerando os tratamentos, neste caso o tempo de coleta foi testado como fator aleatório. As variáveis respostas foram  $g_s$ ,  $A$  e EUA. Todas as análises foram realizadas no programa R Studio (Version 1.1.463), considerando efeitos significativos em  $p < 0,05$ .

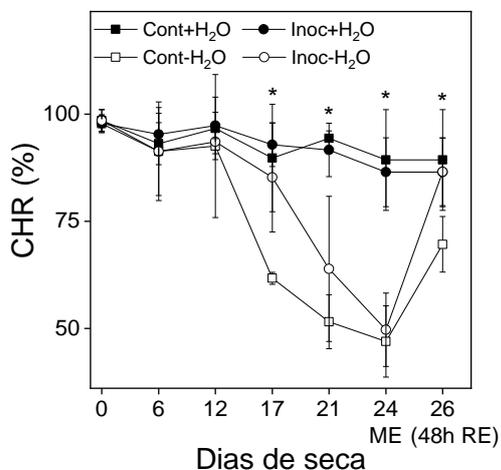
### **3 RESULTADOS**

A verificação da infectividade do solo utilizado como substrato mostrou que em cada grama de solo foram encontrados aproximadamente 0,35 esporos viáveis. Assim, todos os indivíduos analisados apresentaram associação com FMA, tanto os que foram inoculados manualmente no início da produção das mudas, como àqueles tidos como controle da inoculação do FMA, os quais foram semeados em solo natural da Caatinga. Assim, a viabilidade dos poucos esporos contidos no solo se mostrou suficiente para a associação e multiplicação. A frequência de colonização para os dois tratamentos foi de 99%, com a presença de hifas e micélios na estrutura das raízes analisadas. Todavia, embora as plantas tenham realizado simbiose com FMA presente no solo, os indivíduos previamente inoculados apresentaram uma recuperação mais rápida em diferentes parâmetros mensurados, tais como, CHR,  $g_s$ ,  $A$  e EUA após a deficiência hídrica sob condições controladas.

### 3.1 EXPERIMENTO EM CONDIÇÕES CONTROLADAS (ESTRESSE AGUDO)

As plantas apresentaram um crescimento de 30% no tratamento Cont+H<sub>2</sub>O e 10% no tratamento Inoc+H<sub>2</sub>O, porém sem diferenças significativas. O diâmetro do caule não apresentou nenhum crescimento significativo (dados não mostrados).

O CHR das plantas submetidas ao déficit hídrico apresentou redução após o 17º dia de suspensão da irrigação, onde as plantas Cont-H<sub>2</sub>O apresentaram valores 30% menores comparados às plantas do tratamento Inoc-H<sub>2</sub>O (Fig. 3). Nos dias seguintes de estresse os dois tratamentos tiveram seu conteúdo hídrico reduzido em 50% comparado às plantas hidratadas (Cont+H<sub>2</sub>O e Inoc+H<sub>2</sub>O). O máximo estresse das plantas foi considerado quando o conteúdo hídrico foi cerca de 40%. Neste momento, após 24 dias de suspensão da irrigação, a maioria das plantas sob estresse já havia perdido a maior parte de suas folhas. Após 48 horas de reidratação as plantas se recuperaram, mas apenas o tratamento Inoc-H<sub>2</sub>O apresentou CHR semelhante ao das plantas sempre bem hidratadas, por outro lado, o tratamento Cont-H<sub>2</sub>O apresentou *status* hídrico 22% menor que as Cont+H<sub>2</sub>O depois de 48h de reidratação (Fig. 3).



**Fig. 3.** Conteúdo Hídrico Relativo (CHR) de folhas plantas jovens de *Cenostigma microphyllum* em quatro tratamentos combinados por adição ou não de FMA (inoculado e controle) e irrigado e sob déficit hídrico (+H<sub>2</sub>O e -H<sub>2</sub>O) ao longo do experimento de déficit hídrico, no dia do máximo estresse (ME) e após 48h de reidratação (RE). Asteriscos indicam diferenças entre os tratamentos pelo teste de Newman-Keuls ( $p < 0,05$ ) ( $n = 5 \pm DP$ ).

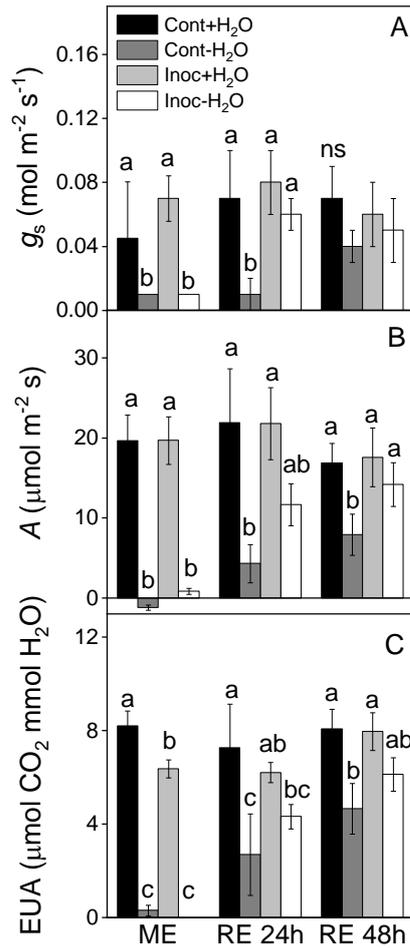
O DPV foi de 2,15 kPa no dia do máximo estresse e 1,89 e 2,13 com 24h e 48h de reidratação, respectivamente. O teor de umidade do solo das plantas de déficit atingiu menos de 10% de umidade, isto é, quase 90% menor que as plantas hidratadas.

As trocas gasosas decresceram no dia do máximo estresse nos tratamentos Cont-H<sub>2</sub>O e Inoc-H<sub>2</sub>O (Fig. 4), a  $g_s$  foi entorno de 80% menor que as plantas hidratadas (Fig. 4A). A assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A) também apresentou o mesmo comportamento, porém foi 95% menor comparada às plantas hidratadas (Fig. 4B). A EUA ocorreu somente em plantas hidratadas, i.e., plantas sob seca não foram capazes de utilizar de forma eficiente a água durante o máximo estresse (Fig. 4C). Para nenhum dos parâmetros analisados no máximo estresse houve diferença significativa entre plantas inoculadas e controle quando sob seca.

Após 24h de reidratação as plantas dos tratamentos Cont-H<sub>2</sub>O e Inoc-H<sub>2</sub>O apresentaram leve recuperação das trocas gasosas. A  $g_s$  das plantas Inoc-H<sub>2</sub>O foi totalmente recuperada, enquanto as plantas Cont-H<sub>2</sub>O ainda apresentavam uma condutância mais baixa (Fig. 4A). A taxa de assimilação líquida apresentou uma recuperação parcial (Fig. 4B). As plantas Inoc-H<sub>2</sub>O recuperaram entorno de 50% a taxa de assimilação CO<sub>2</sub>, enquanto as Cont-H<sub>2</sub>O apenas 10%. A EUA foi menor que as plantas sempre hidratadas novamente, contudo, as Inoc-H<sub>2</sub>O tiveram uma EUA ainda superior que as plantas Cont-H<sub>2</sub>O (Fig. 4C).

Após 48h de reidratação a  $g_s$  de todos os tratamentos apresentaram taxas similares, porém a assimilação de CO<sub>2</sub> das plantas Cont-H<sub>2</sub>O ainda foi 50% menor que às demais. A EUA foi maior em plantas Inoc-H<sub>2</sub>O, quando comparadas à Cont-H<sub>2</sub>O.

A biomassa da parte aérea (PA) e raiz não apresentou diferença nos tratamentos, contudo, o sistema radicular foi sempre maior em todas as plantas, sendo aproximadamente 75% superior e isso foi refletido na relação Raiz/PA que diferiu significativamente entre os tratamentos da seca (Cont-H<sub>2</sub>O e Inoc-H<sub>2</sub>O) (Tabela 2).



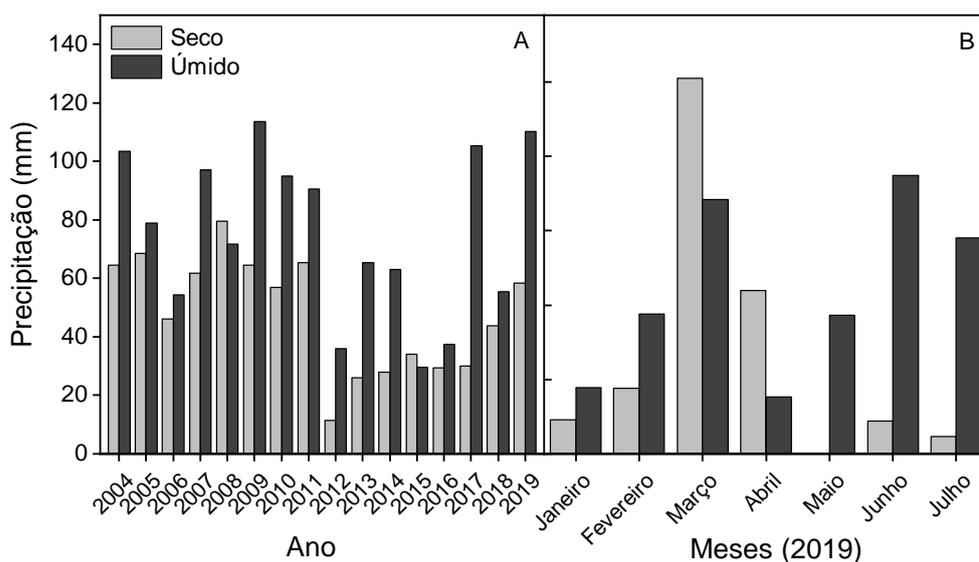
**Fig. 4.** Trocas gasosas de plantas jovens de *Cenostigma microphyllum* em quatro tratamentos combinados por adição ou não de FMA (inoculado e controle) e irrigado e sob déficit hídrico (+H<sub>2</sub>O e -H<sub>2</sub>O) no máximo estresse (ME) e na reidratação (RE) com 24h e 48h. As variáveis são: condutância estomática ( $g_s$ , A), taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A, B) e eficiência do uso da água (EUA, C); Letras indicam diferenças entre os tratamentos pelo teste de Newman-Keuls ( $p < 0,05$ ) ( $n = 3-5 \pm DP$ ).

**Tabela 2.** Biomassa da parte aérea (PA), raiz (R) e relação raiz /parte aérea (R/PA) de plantas jovens de *Cenostigma microphyllum* em quatro tratamentos combinados por adição ou não de FMA (inoculado e controle) e irrigado e sob déficit hídrico (+H<sub>2</sub>O e -H<sub>2</sub>O). Letras indicam diferenças entre os tratamentos pelo teste de Newman-Keuls ( $p < 0,05$ ) ( $n = 5 \pm DP$ ).

Biomassa (g)			
Tratamentos	PA	Raiz	Raiz/PA
Cont+H <sub>2</sub> O	1,32±0,3 <sup>ns</sup>	5,54±1,8 <sup>ns</sup>	3,52±1,3 <sup>b</sup>
Inoc+ H <sub>2</sub> O	1,65±0,2	5,32±0,8	3,24±0,3 <sup>b</sup>
Cont-H <sub>2</sub> O	1,12±0,4	5,74±1,1	4,83±0,7 <sup>a</sup>
Inoc- H <sub>2</sub> O	1,14±0,5	3,85±1,1	4,10±0,9 <sup>a</sup>

### 3.2 EXPERIMENTO EM CONDIÇÕES DE CAMPO (ESTRESSE CRÔNICO)

O ano de 2019 foi um ano com uma média de precipitação relativamente alta, comparado aos últimos oito anos (Fig. 5A). Na parte úmida do parque choveu entre 38,3 e 187,1 o total de 882 mm, por outro lado na parte com histórico de menor precipitação choveu entre 0 e 252,4 mm o total de 466,4 mm (Fig. 5B).



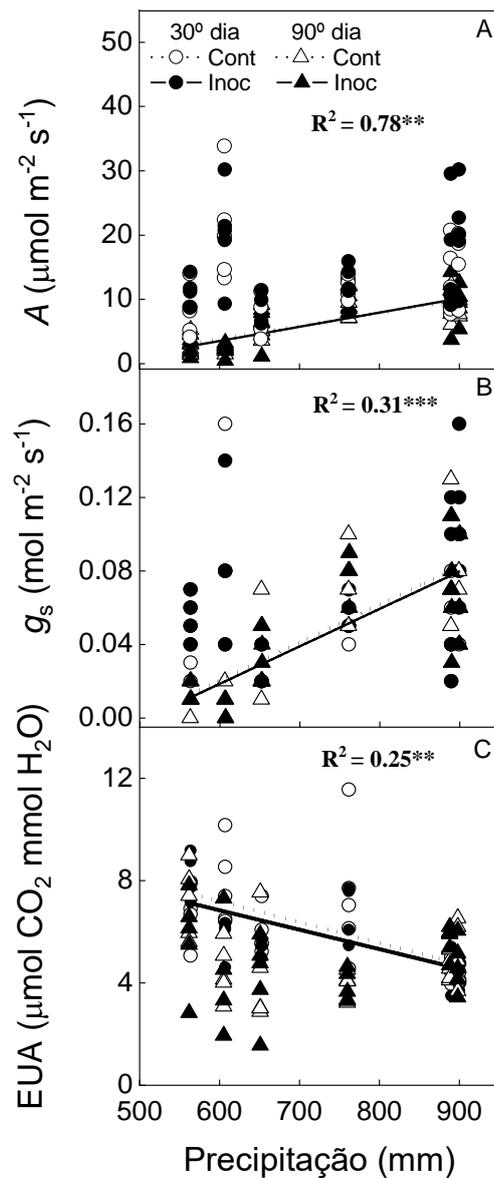
**Fig. 5.** Precipitação média histórica dos últimos 15 anos (A) e precipitação acumulada mensal do ano de 2019 (B) no Parque Nacional do Catimbau em áreas úmidas e secas da região (fonte: APAC).

Todas as plantas foram capazes de sobreviver entre o transplante e 03 meses de permanência sob condições de campo. O modelo do GLMM indicou que o nível de precipitação da parcela de fato influenciou o desempenho fotossintético das plantas (Tabela 3). As trocas gasosas e a EUA tanto no 30º, quanto no 90º dia após o transplante não diferiram entre os tratamentos, nesse caso, as plantas inoculadas previamente e as plantas controle apresentaram o mesmo desempenho para os parâmetros avaliados. O DPV no momento da mensuração das trocas gasosas nas parcelas nos dois períodos de análise variou entre 0,36 a 2,77 kPa.

**Tabela 3.** Análise dos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) das trocas gasosas ao 30° e 90° dia após o transplante das mudas de *Cenostigma microphyllum* em parcelas com diferentes níveis de precipitação do Parque Nacional do Catimbau. Para cada variável do modelo indicamos o coeficiente médio ( $\beta$ ), o erro padrão incondicional (SE), os intervalos de confiança de 95% (IC95%), o valor de p e o R<sup>2</sup> condicional. As variáveis são: condutância estomática ( $g_s$ ), taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A) e eficiência do uso da água (EUA) (n= 5).

Variáveis dependentes	Variáveis independentes	$\beta$	Erro padrão	IC 95%		p	R <sup>2</sup>
				Menor	Maior		
$g_s$	Precipitação	0,001	<0,001	6,886	1,836	<0,001	0,314
	Tratamento (inoc)	-0,007	0,031	-6,767	5,291	0,811	
	Prec×Trat (inoc)	<0,001	<0,001	-6,543	9,712	0,703	
A	Precipitação	0,014	0,005	0,004	0,024	0,004	0,554
	Tratamento (inoc)	-1,504	5,171	-11,640	8,630	0,771	
	Prec×Trat (inoc)	0,003	0,007	-0,010	0,017	0,611	
EUA	Precipitação	-0,006	0,002	-0,011	-0,002	0,006	0,253
	Tratamento (inoc)	-1,153	2,411	-5,877	3,571	0,633	
	Prec×Trat (inoc)	0,001	0,003	-0,005	0,008	0,609	

Ao 30° dia após o transplante as plantas apresentaram o mesmo comportamento para  $g_s$  e A (Fig. 6A), não havendo um padrão claro ou diferenciação dentro do gradiente de precipitação ou dos tratamentos. A EUA, contudo, foi menor em parcelas mais úmidas (Fig. 6C). Entretanto, no 90° dia as taxas de  $g_s$  e A foram menores em parcelas mais secas (Fig. 6A e B), algumas plantas chegaram a zero. Parcelas mais úmidas apresentaram melhores respostas apesar de redução geral nas taxas quando comparadas ao 30° dia. A EUA foi similar em todo o gradiente (Fig. 6C). Entre o 30° e 90° dia após o transplante choveu 168,4 mm nas parcelas das áreas secas e 456,9 mm nas parcelas das áreas úmidas.



**Fig. 6.** Trocas gasosas de plantas jovens de *Cenostigma microphyllum* em dois tratamentos fúngicos (inoculado e controle) em parcelas com diferentes níveis de precipitação do Parque Nacional do Catimbau. As variáveis são: taxa de assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  (A, A), condutância estomática ( $g_s$ , B) e eficiência do uso da água (EUA, C); analisadas pelo teste de GLMM ( $p < 0,05$ ) ( $n = 5$ ).

O maior crescimento tanto em altura quanto ao diâmetro do caule foi visto na parcela de 762 mm, cerca de 30% maior quando comparado ao início do experimento (dados não mostrados). Esse maior crescimento foi refletido no conteúdo de biomassa seca das plantas, que foi maior nessa parcela (tabela 4). Para as demais parcelas o conteúdo de biomassa seca foi semelhante entre si, e para todas elas não houve diferença entre os tratamentos inoculado e controle tanto para altura e diâmetro do caule, quanto para biomassa. As raízes das plantas,

assim como visto em condições controladas apresentou pelo menos 65% mais biomassa quando comparada a parte aérea. A relação Raiz/PA foi maior em uma das parcelas com índice pluviométrico maior, mostrando um maior investimento em raízes nessas plantas (tabela 4).

**Tabela 4.** Biomassa da parte aérea (PA), raiz (R) e relação raiz/parte aérea (R/PA) de plantas jovens de *Cenostigma microphyllum* em dois tratamentos fúngicos (inoculado e controle) em parcelas com diferentes níveis de precipitação do Parque Nacional do Catimbau. Letras indicam diferenças entre as parcelas pelo teste de Newman-Keuls ( $p < 0,05$ ) ( $n = 5 \pm DP$ ).

Biomassa (g)						
Precipitação(mm)	Inoculadas			Controle		
	PA	Raiz	Raiz/PA	PA	Raiz	Raiz/PA
564	1,41±0,4 <sup>b</sup>	4,52±1,0 <sup>b</sup>	3,10±1,0 <sup>b</sup>	1,29±0,3 <sup>b</sup>	5,02±1,4 <sup>b</sup>	4,56±0,8 <sup>b</sup>
607	1,31±0,3 <sup>b</sup>	4,65±1,0 <sup>b</sup>	3,66±0,9 <sup>b</sup>	1,15±0,3 <sup>b</sup>	5,34±1,8 <sup>b</sup>	4,06±1,5 <sup>b</sup>
653	1,78±0,3 <sup>b</sup>	6,16±1,7 <sup>b</sup>	3,43±0,4 <sup>b</sup>	1,85±0,6 <sup>b</sup>	6,14±2,1 <sup>b</sup>	3,59±1,4 <sup>b</sup>
762	4,12±1,7 <sup>a</sup>	12,15±0,8 <sup>a</sup>	3,58±0,4 <sup>b</sup>	4,14±1,4 <sup>a</sup>	12,44±3,4 <sup>a</sup>	3,11±0,6 <sup>b</sup>
890	1,18±0,2 <sup>b</sup>	6,78±2,1 <sup>b</sup>	5,88±1,9 <sup>a</sup>	1,00±0,1 <sup>b</sup>	5,73±2,6 <sup>b</sup>	5,58±2,0 <sup>a</sup>
900	1,14±0,2 <sup>b</sup>	4,41±0,3 <sup>b</sup>	3,54±0,3 <sup>b</sup>	1,13±0,4 <sup>b</sup>	5,23±2,0 <sup>b</sup>	4,12±0,3 <sup>b</sup>

#### 4 DISCUSSÃO

Nossa hipótese, na qual o FMA aumentaria o desempenho das plantas, tanto em condições controladas como em condições de campo, reduzindo os impactos provocados pela variação na disponibilidade hídrica, foi parcialmente corroborada. Diante das condições controladas, as trocas gasosas das plantas inoculadas sob seca (Inoc-H<sub>2</sub>O) apresentaram melhor desempenho durante a reidratação, apresentando uma recuperação mais rápida do estresse. Contudo, as plantas transplantadas em campo não mostraram comportamento diferenciado entre as inoculadas e controle, apresentando desempenho semelhante quanto às trocas gasosas e ganho de biomassa, o que nos leva a rejeitar a nossa segunda hipótese. Ainda, variáveis referentes à presença de simbiose no sistema radicular apontaram que as plantas de

*C. microphyllum* possuem capacidade de realizar a simbiose em solo próprio da Caatinga, sem que haja adição de mais inóculos.

Diante da confirmação de simbiose em ambos os tratamentos a partir daqui plantas inoculadas se referem àquelas que tiveram a interferência do fungo cultivado previamente selecionado, e plantas controle são àquelas sem interferência de fungos selecionados, porém associadas à comunidade nativa de FMA do solo.

#### 4.1 EXPERIMENTO EM CONDIÇÕES CONTROLADAS

As plantas de *C. microphyllum* que foram previamente inoculadas e posteriormente submetidas à deficiência hídrica foram favorecidas pelo fungo cultivado na recuperação do *status* hídrico, e no retardo da desidratação sob seca. Nas trocas gasosas a contribuição do FMA também foi notada nas primeiras 24 h de reidratação, onde plantas do tratamento Inoc-H<sub>2</sub>O tiveram suas taxas recuperadas mais rapidamente. Tal comportamento já foi relatado para plantas inoculadas do gênero *Cenostigma* sob condições de déficit hídrico, onde estas apresentaram mudanças positivas na fotossíntese, bioquímica foliar e produção de biomassa (Frosi et al., 2016) quando inoculadas com FMA. Isso permite que as plantas tenham maior plasticidade na resposta diante da escassez hídrica (Liu et al. 2015). Neste trabalho essa plasticidade se mostrou na mudança da relação Raiz/PA, entretanto, resultado da deficiência hídrica e não da presença do FMA. Sob deficiência hídrica é comum plantas tolerantes a seca restringir o crescimento da PA, o que reduz a perda de água para atmosfera e, estimular o sistema radicular, aumentando dessa forma, a absorção de água e nutrientes (Zhang et al., 2019). Além disso, quando associadas ao FMA o fungo é capaz de modular essa característica plástica das plantas e fortalecer essa estratégia de tolerância à seca, que é o incremento de biomassa radicular (Bahadur et al., 2019; Zhang et al., 2019).

Sob estas condições experimentais o tratamento Inoc-H<sub>2</sub>O apresentou uma maior rapidez na recuperação das variáveis mensuradas durante o período de reidratação, melhorando a capacidade de recuperação de plantas estressadas e aliviando os impactos da seca no metabolismo fisiológico que envolve trocas gasosas e potencial hídrico (Ouledali et al., 2018). Esse resultado sugere que nesse caso os FMA selecionados tiveram um papel relevante ao amenizar o estresse hídrico. Ou seja, o FMA cultivado é capaz de estimular o uso da água em sua planta hospedeira de forma mais eficiente (Liu et al., 2015).

#### 4.2 EXPERIMENTO EM CONDIÇÕES DE CAMPO

Primeiramente é necessário esclarecer que o ponto chave para que o sucesso seja obtido no estabelecimento das mudas em campo, sob condições do semiárido, é a etapa da produção das mudas, que é crucial para garantia de crescimento das plantas em viveiro, tornando-as aptas a posterior transferência para o ambiente natural (Manaut et al., 2015).

Resultados prévios com espécie lenhosa da Caatinga sob os dois principais estresses abióticos da região, deficiência hídrica (Frosi et al., 2016) e salinidade (Frosi et al., 2017), demonstraram que a associação FMA e espécies arbóreas pode amenizar os efeitos negativos sob o ganho de biomassa. O aumento da tolerância aos estresses encontrados no ambiente estaria diretamente relacionado a robustez da raiz promovida pela inoculação por FMA, principalmente por espécies de fungos adaptadas às condições a que as plantas serão submetidas (Manaut et al., 2015). Ainda, o uso combinado de espécies de FMA é uma estratégia conveniente que garante maiores chances de respostas sinérgicas, garantindo o efeito máximo no desempenho da planta (Zhang et al., 2019). Isso ocorre devido aos diferentes padrões de crescimento e desenvolvimento de cada espécie de fungo, que são capazes de ocupar diferentes nichos no solo e ter diferentes estratégias de atuação (Giri e Saxena, 2017). Dessa forma podemos dizer que a técnica utilizada para produção, cultivo e

transferência das mudas nesse trabalho, que permitiu 100% de sobrevivência, durante o tempo analisado, é considerada eficiente e promissora.

Nossos resultados demonstraram que o principal fator para melhor performance das trocas gasosas foi o gradiente de precipitação. Após o período de estabelecimento inicial de 30 dias, parcelas com menor índice pluviométrico apresentaram maiores taxas de EUA, retratando a aclimação dessas plantas ao ambiente mais seco. A EUA é um importante traço funcional que representa a adaptabilidade das plantas às condições hídricas limitadas (Liu et al., 2019). Por outro lado, após 90 dias de transplante a EUA não mais diferiu dentro do gradiente, porém, as taxas de  $A$  e  $g_s$  foram diretamente proporcionais ao índice pluviométrico das parcelas. Esse fechamento estomático progressivo é uma resposta comum às plantas sob efeito moderado de estresse hídrico, que reflete os níveis de água mais baixos no solo, evitando um possível comprometimento do seu *status* hídrico (Salazar-Tortosa et al., 2018; Stellfeldt et al., 2018). Assim, essa redução da  $g_s$  diminui riscos de falha hidráulica, contudo, o custo disso é a consequente redução da assimilação líquida de  $CO_2$  à medida que as condições secas avançam (Salazar-Tortosa et al., 2018). Ainda vale ressaltar que esse controle estomático apresentado pelas plantas jovens de *C. microphyllum* mostra robustez da espécie a ambientes secos. Ainda, a falta de diferença na EUA dentro no gradiente, nesse período, poderia indicar uma resposta promovida pelo FMA associado às raízes, que diante de uma cascata de efeitos da seca melhorou o fluxo e o transporte de água na planta, estimulando o seu uso mais eficiente, i.e., o FMA poderia estar garantindo um *status* hídrico melhor e assim, permitindo às plantas uma assimilação de  $CO_2$  de formas similares aos outros locais (Bárzana et al., 2012; Liu et al., 2015).

O FMA tem um efeito significativamente positivo à sobrevivência das lenhosas, fornecendo vantagens importantes às plantas no estágio de estabelecimento, por justamente favorecer o aumento das taxas de trocas gasosas e da eficiência do uso da água (Asmelash et

al., 2016; Ouedali et al., 2018; Bahadur et al., 2019). Essas vantagens são promovidas pelo aumento da absorção de água e nutrientes pelas raízes em consórcio com as hifas extrarradiculares, principalmente em solos mais pobres e degradados, como àqueles em processo de desertificação (Vieira et al., 2015; Asmelash et al., 2016; Azimi et al., 2018; Ouedali et al., 2018; Bahadur et al., 2019).

O FMA também é capaz de melhorar o ganho de biomassa de espécies lenhosas (Frosi et al., 2016b; 2017), o que aumentaria a velocidade de crescimento na curta estação chuvosa em uma floresta tropical sazonalmente seca. Todavia, em campo não houve diferença entre a biomassa dos tratamentos ou dentro do gradiente, exceto pela parcela com média de 762 mm/ano. Pôde ser observado *in situ* que esta parcela apresentou uma precipitação local superior às outras áreas no período de avaliação. Contudo, percebemos que apesar de uma biomassa destacada, devido a um maior fornecimento de água no período, a relação raiz/parte aérea foi proporcional às outras parcelas, i.e., o investimento em raízes foi maior. Como já mencionado anteriormente (sessão 4.1), a biomassa radicular é comumente maior em plantas inoculadas e sob estresse hídrico, pois essa é uma estratégia de médio/longo prazo de plantas para tolerar a seca, na chance de atingir camadas mais profundas de solo para absorção de água (Zhang et al., 2019).

Diante da colonização micorrízica apresentada em ambos os tratamentos (controle e inoculado) e o padrão de trocas gasosas, biomassa e crescimento similares, percebemos que nesse experimento, sob condições de campo, a microbiota de FMA dos tratamentos não se diferenciou na prática, como visto na reidratação do experimento de condições controladas. Assim, nas circunstâncias de campo, ambos inóculos, nativos ou cultivados se mostraram eficientes, bem como inoculação prévia ou naturalmente ocorrida. Estudos prévios já mostraram como os fungos nativos são eficientes, por ser um método eficaz e econômico para auxiliar o estabelecimento de plantas jovens inseridas em campo (Manaut et al., 2015;

Asmelash et al., 2016; Koziol et al., 2018). Diante disso, os fungos nativos do solo destacam sua grande importância em ambientes naturais (Koziol et al., 2018).

Em síntese, a *C. microphyllum* é uma espécie abundante e bem conhecida na área de Caatinga estudada (Rito et al. 2017).. Seu relacionamento estreito com o FMA (99% de frequência de colonização) em ambos os tratamentos mostra plasticidade e eficiência no proveito dessa relação simbiótica. Nossos achados mostraram que, o FMA cultivado promove uma melhora de destaque na recuperação do *status* hídrico foliar e nas trocas gasosas, sob condições controladas após período de déficit hídrico, como já havíamos mostrado em estudos anteriores (Liu et al., 2005; Ouledali et al., 2018). Esta é uma realidade diante de um estresse agudo, entretanto, esta espécie também responde bem quando associada à comunidade de FMA nativo, como visto em resultados similares em condições de estresse crônico (em campo).

A estratégia de engenharia ecológica neste presente estudo mostra como preparar e transplantar plantas jovens de uma espécie lenhosa, inoculada com um *mix* de FMA selecionados e comuns em áreas semiáridas do Nordeste Brasileiro, e posteriormente transplantadas para o campo. De fato, com a técnica empregada tivemos 100% de sobrevivência das plantas jovens até 90 dias após o plantio, com constante ganho de biomassa e assimilação de CO<sub>2</sub>. Nossos resultados mostraram também que não há necessidade de inoculação prévia com *mix* de FMA para esta espécie, basta a semeadura ocorrer em solo natural que o processo simbiótico ocorre, e sob condições de campo suportam o desenvolvimento das plantas jovens. Contudo, avaliações de longo prazo também são importantes, a fim de avaliar se o estabelecimento final da planta no local foi atingido, i.e., se as plantas foram capazes de desenvolver partes reprodutivas e desenvolver propágulos ao longo do dinamismo sazonal. Uma vez que o fator mais importante em nossa avaliação da performance das plantas sob condições de campo foi o gradiente pluviométrico.

É de grande importância ecológica entender o papel da simbiose planta-FMA e os mecanismos utilizados nessa interação para mitigar efeitos de estresses, a fim de ajudar nas previsões acerca das adaptações futuras das plantas diante de ambientes em mudança. Também é fundamental um bom gerenciamento do solo local para que haja o desenvolvimento de técnicas ecológicas baseadas nos inóculos nativos em espécies vegetais nativas nos programas de recuperação de áreas que foram degradadas e expostas aos processos de desertificação no semiárido brasileiro.

### **AGRADECIMENTOS**

Este estudo foi apoiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (processo PELD 403770/2012-2, processo Universal 470480 / 2013-0). S. Pereira agradece à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo (código de financiamento - 001) Todos os autores são gratos a Pieter Vranckx e OmniVerdi® pelo apoio no desenvolvimento da técnica de cultivo e plantio utilizada no trabalho.

## REFERÊNCIAS

Allen, K., et al. 2017. Will seasonally dry tropical forests be sensitive or resistant to future changes in rainfall regimes? *Environ. Res. Lett.* 12, 023001.

Asmelash, F., et al. 2016. The potential role of arbuscular mycorrhizal fungi in the restoration of degraded lands. *Front. Microbiol.* 7, 1095.

Azimi, R., et al. 2018. Mycorrhiza inoculation effects on seedling establishment, survival and morphological properties of *Ziziphora clinopodioides* Lam. *J. Plant Nutr.* 41, 2692-2704.

Bahadur, A., et al. 2019. Mechanistic insights into arbuscular mycorrhizal fungi-mediated drought stress tolerance in plants. *Int. J. Mol. Sci.* 20, 4199.

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

Cavalcante, U.M.T.; Goto, B.T.; Maia, L.C. 2009. Aspectos da simbiose micorrízica arbuscular. In: Moura, RM, Menezes, M, Mariano, RLR (Eds). *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica. Recife - UFPE, Imprensa Universitária* 5 e 6, 180-208.

Centro de Gestão e Estudos Estratégicos – CGEE. *Desertificação, degradação da terra e secas no Brasil. Brasília, DF: 2016. 252p.*

Chazdon, R.L., et al. 2009. Beyond reserves: A research agenda for conserving biodiversity in human-modified tropical landscapes. *Biotropica* 41, 142-153.

Embrapa, 1997. *Manual de Métodos de Análise de Solo*, 2a. ed. Embrapa, Rio de Janeiro, RJ.

Frosi, G., et al. 2016a. Symbiosis with AMF and leaf Pi supply increases water deficit tolerance of woody species from seasonal dry tropical forest. *J. Plant Physiol.* 207, 84-93.

Frosi, G., et al. 2016b. Increase in biomass of two woody species from a seasonal dry tropical forest in association with AMF with different phosphorus levels. *Appl. Soil Ecol.* 102, 46-52.

Frosi, G., et al. 2017. Arbuscular mycorrhizal fungi and foliar phosphorus inorganic supply alleviate salt stress effects in physiological attributes, but only arbuscular mycorrhizal fungi increase biomass in woody species of a semiarid environment. *Tree Physiol* 38, 25-36.

Giri, B., Saxena, B. 2017. Response of arbuscular mycorrhizal fungi to global climate change and their role in terrestrial ecosystem C and N cycling. In: Varma, A., Prasad, R., Tuteja, N. (eds) *Mycorrhiza-functions, diversity and state of the art*. Springer, Cham, pp 305–327.

van der Heijden, M. G. A., Bardgett, R. D., Van Straalen, N. M. 2008. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecol. Lett.* 11, 296–310.

IPCC special report on climate change, desertification, land degradation, sustainable land management, food security, and greenhouse gas fluxes in terrestrial ecosystems. 2019. [Arneth, A., Barbosa, H., Benton, T., et al. (eds.)].

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

Koske, R.E., Gemma, J.N. 1989. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycol. Res.* 92, 486-488.

Koziol, L., et al. 2018. The plant microbiome and native plant restoration: the example of native mycorrhizal fungi. *BioScience* 68, 996-1006.

Liu, T., et al. 2015. Impact of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth, water status, and photosynthesis of hybrid poplar under drought stress and recovery. *Photosynthetica* 53, 250-258.

Liu, B., et al. 2019. Drought stress affects on growth, water use efficiency, gas exchange and chlorophyll fluorescence of *Juglans* rootstocks. *Sci. Hort.* 250, 230-235.

Ma, Y., et al. 2019. Editorial: beneficial microbes alleviate climatic stresses in plants. *Front. Plant Sci.* 10, 595.

Manaut, N., et al. 2015. Potentialities of ecological engineering strategy based on native arbuscular mycorrhizal community for improving afforestation programs with carob trees in degraded environments. *Ecol. Eng.* 79, 113-119.

Marengo, J.A., Bernasconi, M. 2015. Regional differences in aridity/drought conditions over Northeast Brazil: present state and future projections. *Clim. Change* 129, 103-105.

Ouledali, S., et al. 2018. Estimating the contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to drought tolerance of potted olive trees (*Olea europaea*). *Acta Physiol. Plant.* 40, 81.

Rito, K.F., et al. 2017. Precipitation mediates the effect of human disturbance on the Brazilian Caatinga vegetation. *J. Ecol.* 105, 828-838.

Salazar-Tortosa, D., et al. 2018. Gas exchange at whole plant level shows that a less conservative water use is linked to a higher performance in three ecologically distinct pine species. *Environ. Res. Lett.* 13, 045004.

Santos, M.G., et al. 2014. Caatinga, the Brazilian dry tropical forest: can it tolerate climate changes? *Theor. Exp. Plant Phys.* 26, 83-99.

Silva, J.M.C., Leal, I.R., Tabarelli, M. 2017. Caatinga The Largest Tropical Dry Forest Region in South America. Springer International Publishing, Cham. p.482.

Stellfeldt, A., et al. 2018. Gas exchange and water relations of young potted loquat *cv.* Algeria under progressive drought conditions. *J. Integr. Agr.* 17, 1360-1368.

Tabarelli, M., et al. 2018. Caatinga: legado, trajetória e desafios rumo à sustentabilidade. *Ciência e Cultura* 70, 25-29.

Thomas, E., et al. 2014. Genetic considerations in ecosystem restoration using native tree species. *For. Ecol. Manag.* 333, 66–75.

Vieira R.M.S.P., et al. 2015. Identifying areas susceptible to desertification in the Brazilian northeast. *Solid Earth* 6, 347-360.

Zhang, Z., et al. 2019. Arbuscular mycorrhizal fungi improve the growth and drought tolerance of *Zenia insignis* seedlings under drought stress. *New Forest.* 50, 593-604.

## 4 CONCLUSÃO

---

Diante dos problemas previstos e já acarretados pelas mudanças climáticas e perturbações antrópicas nos deparamos com a importância da simbiose planta-FMA dentro desse cenário de escassez hídrica, perda de habitat e degradação de áreas. Ao longo das análises dessa relação simbiótica realizadas nessa tese percebemos que a precipitação é um fator de grande importância para a relação planta-FMA. Pois, vimos que o FMA tem um papel chave na recuperação das plantas diante do estresse hídrico, e isso é crucial para sobrevivência das espécies vegetais em ambientes com escassez severa de água (como visto no capítulo 2).

Essa é uma razão para o seu uso em programas que visem a recuperação de áreas degradadas através da inserção de novos elementos no sistema, desde que haja um bom gerenciamento da microbiota do solo local e que seja utilizada uma técnica de plantio eficiente. Porém, é importante mencionar que com o avanço e prolongamentos dos efeitos de seca, previstos para o semiárido brasileiro, são grandes as chances das plantas não conseguirem suportar a manutenção da simbiose e que essa a interação seja reduzida no ecossistema. E por esse motivo é fundamental que haja estudos mais aprofundados e de longo prazo com base na escassez de água, sofrida pela Caatinga, a fim de definir o grau de risco a que esses micro-organismos estão submetidos.

## REFERÊNCIAS

- ALAGADOR, D. et al. Linking like with like: optimising connectivity between environmentally-similar habitats. **Landscape Ecology**, v. 27, p. 291–301, 2012.
- ALBUQUERQUE, U. P. et al. Caatinga Revisited: Ecology and Conservation of an Important Seasonal Dry Forest. **The Scientific World Journal**, v. 2012, p. 1–18, 2012.
- ALLEN, K., et al. Will seasonally dry tropical forests be sensitive or resistant to future changes in rainfall regimes? **Environmental Research Letters** v. 12, 023001, 2017.
- ALGUACIL, M. M. et al. Plant type differently promote the arbuscular mycorrhizal fungi biodiversity in the rhizosphere after revegetation of a degraded, semiarid land. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 43, p. 167-173, 2011.
- ARAÚJO FILHO, J. 2013. Manejo pastoril sustentável da caatinga (No. IICA L01-52). IICA, Brasília (Brasil) Projeto Dom Helder Camara, Recife (Brasil) Projeto SEMEAR, Brasília (Brasil). Associação Brasileira de Agroecologia, Rio Grande do Sul (Brasil).
- AUGÉ R.M. et al. Symplastic sugar and free amino acid molality of Rosa roots with regard to mycorrhizal colonization and drought. **Symbiosis**, v. 12, p. 1–17, 1992.
- AUGÉ R. M. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Mycorrhiza**, v. 11, p. 3–42, 2001.
- BARROS, V., et al. Arbuscular mycorrhizal fungi improve photosynthetic energy use efficiency and decrease foliar construction cost under recurrent water deficit in woody evergreen species. **Plant Physiology and Biochemistry** v. 127, p. 469-477, 2018.
- BASCOMPTE, J.; SOLÉ, R.V. Habitat fragmentation and extinction thresholds in spatially explicit models. **Journal of Animal Ecology**, 65, 465–473, 1996.
- BASCOMPTE, J. Mutualism and biodiversity. **Current Biology**, v. 29, p. R467-R470, 2019.
- BONFANTE, P.; DESIRÒ, A. **Arbuscular mycorrhizas: the lives of beneficial fungi and their plant host**. In: B. Lugtenberg (ed). Principles of Plant-Microbe Interactions. Springer International Publishing Switzerland, Heidelberg, p. 235-245, 2015.
- BONFIL, C.; TREJO, I. Plant propagation and the ecological restoration of mexican tropical deciduous forests. **Ecological Restauration**, v. 28, p. 369-376, 2010.
- BLACKIE, R. et al. **Tropical dry forests: The state of global knowledge and recommendations for future research**. CIFOR, 2014.
- BRODIE, J; POST, E.; LAURANCE, W. F. Climate change and tropical biodiversity: a new focus. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 27, p 145-150, 2012.
- BRONSTEIN, J. L.; DIECKMANN, U.; FERRIE`RE, R. 2004. Evolutionary Conservation Biology. Cambridge University Press, Cambridge.

BÜRGI, M.; ÖSTLUND, L.; MLADENOFF, D.J. Legacy effects of human land use: ecosystems as time-lagged systems. **Ecosystems**, v. 20, p. 94-103, 2017.

CARAVACA, F. et al. Establishment of shrubs species in a degraded semiarid site after inoculation with native or allochthonous arbuscular mycorrhizal fungi, **Applied Soil Ecology**, v.22, p. 103–111, 2003.

CAVALCANTE, U.M.T.; GOTO, B.T.; MAIA, L.C. Aspectos da simbiose micorrízica arbuscular. In: Moura, RM, Menezes, M, Mariano, RLR (Eds). **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**. Recife - UFPE, Imprensa Universitária. v. 5 e 6, p.180-208, 2008-2009.

CHAZDON, R. L. et al. Beyond reserves: A research agenda for conserving biodiversity in human-modified tropical landscapes. **Biotropica**, v. 41, p. 142-153, 2009.

COMPANT, S.; VAN DER HEIJDEN, M. G. A.; SESSITSCH, A. Climate change effects on beneficial plant-microorganism interactions. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 73, p. 197-214, 2010.

IPCC, 2014. **Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part B: Regional Aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change**. [BARROS, V.R., C.B. FIELD, D.J. DOKKEN, M.D. MASTRANDREA, K.J. MACH, T.E. BILIR, M. CHATTERJEE, K.L. EBI, Y.O. ESTRADA, R.C. GENOVA, B. GIRMA, E.S. KISSEL, A.N. LEVY, S. MACCRACKEN, P.R. MASTRANDREA, AND L.L. WHITE (eds.)].: Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 2014.

FRECKLETON, R.P.; WATKINSON, A.R. Large-scale spatial dynamics of plants: metapopulations, regional ensembles and patchy populations. **Journal of Ecology**, v. 90, p. 419-434, 2002.

FROSI, G., et al. 2016. Increase in biomass of two woody species from a seasonal dry tropical forest in association with AMF with different phosphorus levels. **Applied Soil Ecology**, v. 102, p. 46-52.

GARIGLIO, M. A. et al. **Uso sustentável e conservação dos recursos florestais da Caatinga**. Ministério do Meio Ambiente, Serviço Florestal Brasileiro, Brasília, 368p., 2010.

HARDIE, K. The effect of removal of extraradical hyphae on water uptake by vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. **New Phytologist**, v.101, p.667–684, 1985.

HERRERA, M.A.; SALAMANCA, C.P.; BAREA, J.M. Inoculation of woody legumes with selected arbuscular Mycorrhizal fungi and rhizobia to recover desertification mediterranean Ecosystems. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 53, p. 129-133, 1993.

VAN DER HEIJDEN, M. G. A.; BARDGETT, R. D.; VAN STRAALLEN, N. M. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. **Ecology Letters**, v. 11, p. 296–310, 2008.

VAN DER HEYDE, M., et al. Arbuscular mycorrhizal fungus responses to disturbance are context-dependent. **Mycorrhiza**, v. 27, p. 431-440 2017.

HODGE, A.; STORER, K. Arbuscular mycorrhiza and nitrogen: implications for individual plants through to ecosystems. **Plant and Soil**, v. 386, p. 1-19, 2015.

INSA, 2012. Sinopse do Censo Demográfico Para o Semiárido Brasileiro / Salomão de Sousa Medeiros...[et al.].— Campina Grande: INSA, 103p., 2012.

JEFFRIES, P. et al. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. **Biology and Fertility of Soils**, v. 37, p. 1-16, 2003.

KAFKAS, S.; ORTAS, I. Various mycorrhizal fungi enhance dry weights, P and Zn uptake of four *Pistacia* species. **Journal of Plant Nutrition**, v. 32, p. 146-159, 2009.

KIERS, E. T. et al. Mutualisms in a changing world: an evolutionary perspective. **Ecology Letters**, v. 13, p. 1459-1474, 2010.

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

LAMB, D.; ERSKINE, P.D.; PARROTA, J.A. Restoration of degraded tropical forest landscapes. **Science**, v. 310, p. 1628-1632, 2005.

LAURANCE, W. F.; SAYER, J.; CASSMAN, K. G. Agricultural expansion and its impacts on tropical nature. *Trends in Ecology and Evolution*, v. 29, p. 107-116, 2014.

LUCENA, R. F. P. L. et al. Useful plants of the semi-arid northeastern region of Brazil - a look at their conservation and sustainable use. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 125, p. 281-290, 2007.

MILES, L. et al. A global overview of the conservation status of tropical dry forests. **Journal of Biogeography**, v. 33, p. 491–505, 2006.

MALHI, Y. et al. 2014. Tropical Forests in the Anthropocene. **Annual Review of Environmental and Resource**, v. 39, p. 125-59.

MOONEY, H. A.; BULLOCK, S. H.; MEDINA, E. Introduction. In: BULLOCK, S. H.; MOONEY, H. A.; MEDINA, E. (Eds.). *Seasonally dry tropical forests*. Cambridge: Cambridge University Press, Cambridge, 1995. p. 1–8.

MUMMEY, D. L.; RILLIG, M. C. The invasive plant species *Centaurea maculosa* alters arbuscular mycorrhizal fungal communities in the field. **Plant Soil**, v. 288, p. 81–90, 2006.

OEHL, F. Advances in Glomeromycota taxonomy and classification. **IMA Fungus**, v. 2, p. 191-199, 2011.

OPIK, M. et al. Composition of root-colonizing arbuscular mycorrhizal fungal communities in different ecosystems around the globe. **Journal Ecology**, 94, 778–790, 2006.

PEÑA-DOMENE, M.; MARTÍNEZ-GARZA, C.; HOWE, H.F. Early recruitment dynamics in tropical restoration. **Ecological Applications**, v. 23, p. 1124-1134, 2013.

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

PORCEL, R.; AZCÓN, R.; RUIZ-LOZANO, J. M. Evaluation of the role of genes encoding for D1-pyrroline-5-carboxylate synthetase (P5CS) during drought stress in arbuscular mycorrhizal *Glycine max* and *Lactuca sativa* plants. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.65, p.211–221, 2004.

PORCEL, R.; AROCA, R.; RUIZ-LOZANO, J. M. Salinity stress alleviation using arbuscular mycorrhizal fungi. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 32, p. 181-200, 2012.

RAUSCH, C. et al. A phosphate transporter expressed in arbuscule-containing cells of potato. **Nature**, v. 414, p.462-466, 2001.

RIEDERER, M.; SCHREIBER, L. Protecting against water loss: analysis of the barrier properties of plant cuticles. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, p. 2023-2032, 2001.

RITO, K. F. et al. Precipitation mediates the effect of human disturbance on the Brazilian Caatinga vegetation. **Journal Ecology**, v. 105, p. 828-838, 2017.

RUIZ-LOZANO, J.M.; AZCÓN, R. Hyphal contribution to water uptake in mycorrhizal plants as affected by the fungal species and water status. **Physiology Plantarum**. v.95, p.472–478, 1995a.

RUIZ-LOZANO, J.M.; GÓMEZ, M.; AZCÓN, R. Influence of different *Glomus* species on the time-course of physiological plant responses of lettuce to progressive drought stress periods. **Plant Science**.v.110, p.37–44, 1995b.

RUIZ-LOZANO, J. M. et al. Arbuscular mycorrhizal symbiosis can alleviate drought-induced nodule senescence in soybean plants. **New Phytologist**, v.151, p.493–502, 2001.

SAMPAIO, E. V. S. B. **Uso das plantas da Caatinga**. In: V.S.B. Everardo; Sampaio; A.M. Giulietti; J. Virgílio & C.F.L. Gamarra-Rojas (eds.). Recife, APNE & CNIP. p.49-68, 2002.

SÁNCHEZ-AZOFEIFA, G. A. et al. Research priorities for Neotropical dry forests. **Biotropica: The Journal of Biology and Conservation**, v. 37, n. 4, p. 477-485, 2005.

SFAIR, C. J. et al. Chronic human disturbance affects plant trait distribution in a seasonally dry tropical forest. **Environmental Research Letters**, v. 13, p. 025005, 2018.

SHONO, K.; CADAWENG, E.A.; DURST, P.B. Application of assisted natural regeneration to restore degraded tropical forestlands. **Restoration Ecology**, v. 15, p. 620-626, 2007.

SINGH, S. P. Chronic disturbance, a principal cause of environmental degradation in developing countries. **Environmental Conservation**, v. 25, p. 1-2, 1998.

SOUSA, F. P. et al. Carbon and nitrogen in degraded Brazilian semi-arid soils undergoing desertification. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 148, p. 11-21, 2012.

SOUZA, F. M.; BATISTA, J.L.F. Restoration of seasonal semideciduous forests in Brazil: influence of age and restoration design on forest structure. **Forest Ecology and Management**, v. 191, p. 185-200, 2004.

SOUZA, B. D. et al. Water relations and chlorophyll fluorescence responses of two leguminous trees from the Caatinga to different watering regimes. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 32, p. 235–244, 2010.

STEIDINGER, B. S. et al. Climatic controls of decomposition drive the global biogeography of forest-tree symbioses. **Nature**, v. 569, p. 404-408, 2019.

TOMASELLA, J. et al. Desertification trends in the Northeast of Brazil over the period 2000–2016. **International Journal of Applied Earth Observation Geoinformation**, v. 73, p. 197-206, 2018.

TRAVIS, J. M. J. et al. Climate change and habitat destruction: a deadly anthropogenic cocktail. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 270, p. 467-473, 2003.

TROVÃO, B. M. D. M. et al. Variações sazonais de aspectos fisiológicos de espécies da Caatinga. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, p. 307-311, 2007.

TYLIANAKIS, J. M. et al. Global change and species interactions in terrestrial ecosystems. **Ecology Letters**, v. 11, p. 1351-1363, 2008.

URBAN, M.C. Accelerating extinction risk from climate change. **Science**, v. 348, p. 571-573, 2015.

VIEIRA, R. M. S. P. et al. Identifying areas susceptible to desertification in the Brazilian northeast. **Solid Earth**, v. 6, p. 347-360, 2015.

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

**APÊNDICE A – ARTIGO PUBLICADO NA FOREST ECOLOGY AND  
MANAGEMENT**

---

INTENSE MYCORRHIZAL ROOT COLONIZATION IN A HUMAN-MODIFIED  
LANDSCAPE OF THE CAATINGA DRY FOREST

1 **Intense mycorrhizal root colonization in a human-modified landscape of the**  
2 **Caatinga dry forest**

3

4 Silvia Pereira <sup>a,b</sup>, Inara Leal <sup>b</sup>, Marcelo Tabarelli <sup>b</sup>, Mauro G. Santos <sup>b,\*</sup>

5 <sup>a</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Centro de Biociências, Universidade  
6 Federal de Pernambuco, Recife, Brazil

7 <sup>b</sup>Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901 Recife,  
8 Pernambuco, Brazil

9

10 **\*Corresponding author**

11 *E-mail address:* mauro.g santos@ufpe.br (M. Santos)

12

13

14 **Abstract**

15 Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) symbioses are thought to help plants to cope with harsh  
16 environments and to affect not only plant fitness, but also ecological organization from  
17 population to ecosystem level. Here, we investigated to what extent this association was  
18 present, and what the major environmental drivers were in a human-modified landscape of the  
19 Caatinga dry forest in north-eastern Brazil. AMF spore density in the soil and the frequency  
20 of AMF root colonization were examined at the species and forest-stand level for the nine  
21 most abundant and widespread woody plant species in 18 forest plots across gradients of  
22 chronic anthropogenic disturbance, rainfall and soil attributes. Soil spore density was low ( $1.0$   
23  $\pm 0.6$  spore/g soil) across all conditions. However, AMF were present across all species, and  
24 colonization frequencies were high (50%, on average) throughout the entire environmental  
25 gradients. At species level, AMF colonization frequency only responded to environmental  
26 variables (disturbance, rainfall, soil available phosphorus, soil organic matter and soil pH) in  
27 one species (*Cnidocolus pubescens*). At forest-stand level, colonization frequency responded  
28 positively to both soil pH and rainfall, but not to chronic anthropogenic disturbance. Our  
29 results suggest AMF symbiosis is widespread among the plant species and ecological  
30 conditions in the Caatinga. Moreover, this symbiosis, which in this case was mediated by  
31 rainfall, is likely affecting the resilience of the Caatinga dry forest as it is associated with the  
32 most abundant and biomass-relevant forest species and in the harshest conditions for plant  
33 survival and reproduction (i.e. nutrient-poor soils and dry habitats).

34

35 **Keywords:** Arbuscular mycorrhizal fungi colonization; chronic anthropogenic disturbance;  
36 forest resilience; rainfall gradient; soil attributes; spore density

37

## 38 1. Introduction

39 Human disturbances are reorganizing the biodiversity of tropical forests, causing  
40 impacts from population to ecosystem level, including forest dynamics and ecosystem  
41 resilience (Tabarelli et al., 2010; Malhi et al., 2014; García-Valdés et al., 2015). Human-  
42 driven disturbances include the continuous removal of small portions of aboveground forest  
43 biomass via, for example, firewood collection, exploitation of non-timber forest products and  
44 livestock grazing (i.e. chronic anthropogenic disturbance, *sensu* Singh 1998) by forest-  
45 dependent people. This removal of forest biomass can result in more open forest habitats with  
46 hotter and drier microclimates (e.g. Hardwick et al., 2015, Silva et al. 2019), depleted levels  
47 of soil nutrients and water content as well as increased compaction (Guadarrama et al., 2014;  
48 Schultz et al. 2016; Heyde et al., 2017). Such harsh conditions or high-stress environments  
49 have been proposed to reorganise woody plant assemblages (Ribeiro et al. 2019), with  
50 cascading effects on biotic interactions (e.g. disruption of mutualisms) and the ecosystem  
51 functions and services they provide (Leal et al. 2014, Oliveira et al. 2019). In addition to  
52 chronic anthropogenic disturbances, several tropical biotas are currently experiencing  
53 significant impacts due to climate change. At organism level, changes in morphology,  
54 phenology and physiology have been observed as a result of climate change (Martínez-García  
55 et al., 2012; García-Valdés et al., 2015; Allen et al., 2017). Furthermore, changes in species  
56 distribution and abundance (Parmesan and Yohe, 2003; Mair et al., 2014), biotic interactions  
57 (Rubenstein, 1992; Martínez-García et al., 2012; Silva et al. 2019) and patterns of ecosystem  
58 functioning (Walther et al., 2002; Allen et al., 2017) have been also associated with climate  
59 change (Walther et al., 2002). Consequently, there has been increasing concern over the  
60 potential connections between local human disturbances and climate change, such as the  
61 emergence of physically harsher habitats and their cascading effects on biological  
62 organization (Hirota *et al.*, 2011; Rito, Arroyo-Rodríguez, Queiroz, Leal, & Tabarelli, 2017).

63 For example, reduced rainfall has been a constant threat to seedling recruitment and plant  
64 performance across human-disturbed semiarid regions, where soil water availability is  
65 typically a limiting factor (Brodie et al., 2012; Santos et al., 2014; Allen et al., 2017, Ribeiro  
66 et al. 2019).

67 On the other hand, there is some evidence that symbioses between plants and  
68 arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) could reduce some of the negative effects of human  
69 disturbance and climate change on plant establishment and performance (Violi et al., 2008;  
70 Uiboppu et al., 2009). AMF colonize the roots of approximately 80% of terrestrial plants  
71 (Smith and Read, 2008). By affecting performance of host plants, e.g. improving seedling  
72 survival (Miranda and Miranda, 2001), AMF symbiosis can influence not only plant  
73 community structure, but also patterns of ecosystem productivity, nutrient cycling and  
74 resilience (Van der Heijden et al., 2015). Indeed, AMF symbiosis may be crucial for plant  
75 establishment, especially in the face of soil water deficit, as AMF can increase the gain and  
76 transfer of water to the plant through the hyphae (Hardie, 1985; Ruiz-Lozano; Azcón, 1995).  
77 AMF symbiosis can also increase soil water retention properties (Augé, 2001; Rillig and  
78 Mummey 2006), and improve osmotic adjustment (Augé et al., 1992; Kubikova et al., 2001;  
79 Ruiz-Lozano et al., 1995), increase gas exchange and water use efficiency (Augé et al., 1992;  
80 Ruiz-Lozano et al., 1995; Frosi et al., 2016b) and protect from oxidative damage generated by  
81 drought (Porcel; Ruiz-Lozano, 2004; Porcel et al. , 2003; Ruiz-Lozano et al., 2001). Finally,  
82 AMF may facilitate the establishment of plants in unfertile soils by increasing their capacity  
83 to absorb nutrients, especially phosphorus (Karanika et al., 2008; Dostálek et al. 2013). In  
84 synthesis, AMF symbiosis may be crucial for plant establishment because it improves soil  
85 aggregation and promotes increased biomass and plant survival in habitats with limiting  
86 conditions (Rillig and Mummey 2006; Violi et al., 2008; Frosi et al., 2016b; Pánková et al.,  
87 2018).

88           The Caatinga dry forest covers around 1 million km<sup>2</sup> in north-eastern Brazil and is the  
89 largest and most biodiverse seasonally dry tropical forest (SDTF) globally (Pennington et al.,  
90 2009; Silva et al., 2017). Similar to other SDTFs, the Caatinga supports dense rural  
91 populations, whose livelihoods are heavily dependent on the use of local natural resources;  
92 i.e. forest-dependent people (Silva et al., 2017). Additionally, the Caatinga biota is expected  
93 to experience a decline in rainfall of 22% by 2100 (IPCC, 2014). Increased human  
94 disturbance, low soil fertility (particularly in sandy soils) and reduced water availability, as  
95 well as frequent prolonged droughts as a result of declining rainfall, might favour AMF  
96 symbioses due to the harsher conditions imposed by these abiotic factors. Thus, verifying the  
97 extent to which AMF colonization is affected by disturbance, climate regime and soil  
98 conditions is essential to understand the importance of this association to the establishment of  
99 woody plants in the Caatinga dry forest. This is particularly relevant as AMF symbioses are  
100 essential for plant establishment and performance.

101           Here, we examined the relevance of AMF symbioses in a human-modified landscape  
102 in the Caatinga dry forest in north-eastern Brazil and their driving forces. More precisely, we  
103 assessed soil spore density at forest stand level and AMF root colonization across the nine  
104 most abundant woody plant species (i.e. species level) and at forest stand level across our  
105 focal landscape. In addition, we investigated the potential impacts of chronic anthropogenic  
106 disturbance, rainfall and soil attributes on these symbiosis-related attributes. We expected  
107 higher spore densities and frequencies of effective colonization as chronic human disturbance  
108 increased and soil fertility and rainfall decreased, because sporulation often increases under  
109 such stressful conditions (Zangaro et al., 2013), while AMF colonization would favour plant  
110 establishment and growth via better uptake of soil water and nutrients (Augé, 2001; Caravaca  
111 et al., 2003; Alguacil et al., 2011; Van der Heyde et al., 2017). Finally, we discuss the

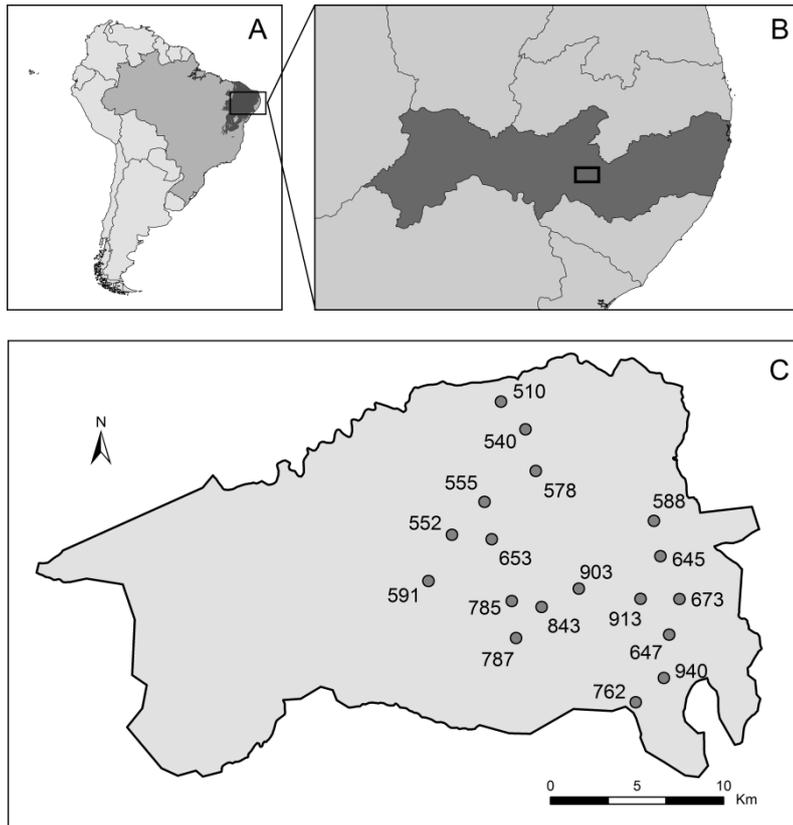
112 uncovered patterns in light of the drivers of these symbioses and their ecological relevance,  
113 including for the resilience of the Caatinga dry forest.

114

## 115 **2. Material and methods**

### 116 *2.1. Study site*

117 The study was conducted in the Catimbau National Park, a 607-km<sup>2</sup> protected area in  
118 north-eastern Brazil (Fig. 1). The regional climate is semiarid and is classified as *BSh*,  
119 transitioning to rainy tropical (*As'*) in some areas (Köppen system). Mean annual rainfall  
120 varies markedly in the Catimbau, from 1100 mm in the south-east to 480 mm in the north-  
121 west, with a mean annual temperature of 23°C (Rito et al., 2017). Approximately 70% of the  
122 park landscape is covered by naturally impoverished quartzite sandy soils, supporting low  
123 stature and nutrient-poor (up to 12 m) Caatinga dry forest (Rito et al., 2017). Fabaceae,  
124 Euphorbiaceae, Boraginaceae and Burseraceae are the most important woody plant families,  
125 while the herbaceous understory is dominated by Cactaceae and Bromeliaceae (Rito et al.,  
126 2017).



127

128 **Fig. 1.** Study region in north-eastern Brazil (a), and the study landscape (rectangle) in Pernambuco  
 129 state (shaded area in b). Limits of Catimbau National Park with the 18 study plots represented by dots  
 130 (c). Numbers in (c) represent the mean annual precipitation in mm for each plot.

131

## 132 2.2. Chronic anthropogenic disturbance, rainfall, soil attributes and woody plant 133 assemblages

134 A long-term ecological research initiative established a network of 18 0.1-ha  
 135 permanent plots in the Catimbau National Park, distributed along independent gradients of  
 136 chronic anthropogenic disturbance and rainfall (Rito et al., 2017). All plots were on sandy  
 137 soil, had similar slope, and supported old-growth vegetation that had not experienced slash-  
 138 and-burn agriculture for at least 50 years (Rito et al., 2017). Plots were separated by a  
 139 minimum of 2 km and occurred within an area of 214 km<sup>2</sup> (Rito et al., 2017).

140 Briefly, the degree of chronic anthropogenic disturbance was characterized for each  
 141 plot using a global multi-metric disturbance index, which combined the three main sources of

142 local disturbance: grazing by livestock, wood extraction and exploitation of non-timber  
143 products (Arnan et al. 2018). These sources of disturbance were quantified for each plot using  
144 socioecological data from surrounding farms and towns, geographic distances from farms and  
145 roads, along with direct measurements taken within the plots (Arnan et al., 2018). This multi-  
146 metric disturbance index was standardized to range from 0 (no disturbance) to 100 (maximum  
147 possible disturbance), and actual values ranged from 2.7 to 58.1 (Arnan et al., 2018). The  
148 mean annual precipitation for each plot was obtained from the WorldClim global climate data  
149 repository (Hijmans et al., 2005) with 1 km resolution using the “*maptools*” package (Bivand  
150 and Lewin-Koh, 2015) for R 3.1.2 (R Core Team, 2015). Soil attributes were characterized  
151 using five samples of the upper 20 cm of soil in each plot, which were pooled into a single  
152 soil sample per plot (see Souza et al., 2019). Soil samples were analysed by a private  
153 agronomic lab following the Brazilian standard protocols for agronomic analyses (Embrapa,  
154 1997). We used available phosphorous in soil ( $21.3$  to  $74.4$  mg dm<sup>-3</sup>), soil pH (4.2 to 6.2) and  
155 soil organic matter content ( $4.4$  to  $42.4$  g kg<sup>-1</sup>) to estimate soil fertility. Data on relative  
156 abundance of species and aboveground biomass were obtained from Rito et al. (2017) and  
157 Souza et al. (2019), respectively. We used a principal component analysis (PCA) to  
158 investigate whether any of our explanatory variables were correlated. Aboveground biomass  
159 and rainfall were found to be correlated, so we excluded aboveground biomass from our  
160 analyses.

161

### 162 2.3. Focal plant species

163 We focused on sampling and analysing soil mycorrhizal spore density and root  
164 colonization for the nine most-abundant and widely distributed woody plant species of the  
165 Caatinga focal landscape (Table S1 Supplementary material, Rito et al. 2017). We sampled  
166 adult individuals (i.e. diameter at soil height > 3 cm and height > 1.0 m, *sensu* Felfili et al.,

167 2005) of our nine focal species that were physically isolated from other plants (minimum  
168 radius of 30 cm) to prevent the roots of other individuals from being collected during  
169 sampling. We aimed to sample three individuals per species per plot, but the number of  
170 individuals per species varied according to the abundance of individuals conforming to our  
171 selection criterion. One to three individuals were sampled per species per plot, with a total of  
172 224 individuals sampled throughout our focal landscape (Table S2 Supplementary material).

173

#### 174 *2.4. Plant-AMF symbiosis*

175 To investigate the relevance of AMF symbioses in the Caatinga dry forest, we  
176 examined two variables: soil spore density and percentage of root colonization (i.e.  
177 colonization frequency). To assess soil spore density in each of our 18 plots, five 500-g  
178 samples of the upper 20 cm of soil were randomly collected in each plot during the wet  
179 season. These five samples per plot were pooled into a single sample in sealed bags and  
180 transported to the laboratory to quantify the number of spores and sporocarps (adapted from  
181 Silva et al. 2014). A subsample of 100 g of each soil sample was wet-sieved (Gerdemann and  
182 Nicolson, 1963) before centrifugation (1,048×g) in water and sucrose (Jenkins, 1964). The  
183 number of spores was counted under a stereomicroscope at 40–100× magnification and  
184 converted to number of spores per g of soil.

185 AMF root colonization frequency at the plant species level was estimated by collecting  
186 a minimum of 3 g of roots together with the rhizosphere from the base of the stem of each  
187 focal plant. Root harvesting was carried out in the rainy season to allow the identification of  
188 deciduous species based on vegetative and/or reproductive characteristics. Collected roots  
189 were taken to the laboratory, where fine roots were selected and kept in 50% alcohol. Roots  
190 were clarified with 10% (w/v) KOH for 24 h at room temperature, washed with distilled water  
191 and stained with trypan blue (w/v) for 1 h (adapted from Koske and Gemma, 1989). Two

192 slides per individual were assembled with 25 1-cm root fragments each (totalling 50 cm of  
193 root length per individual) for analysis under a microscope with 40× magnification  
194 (Giovannetti and Mosse, 1980). Root fragments with any AMF structures (i.e. arbuscles,  
195 vesicles or hyphae) were considered to be colonized (Frosi et al., 2016a). Colonization  
196 frequency was calculated as  $F = n/N \times 100$ , where  $n$  is the number of colonized fragments and  
197  $N$  is the total number of fragments. This equation was used to calculate colonization  
198 frequency per species per plot, as well as colonization frequency per plot by pooling all  
199 species in each plot (as adopted Meng et al., 2015).

200

## 201 2.5. Data analysis

202 We used a general linear model (GLM) to test for the separate and combined effects of  
203 our explanatory variables (chronic anthropogenic disturbance index, rainfall and soil available  
204 phosphorus, pH and organic matter) on plot-level spore density. To investigate potential  
205 effects of our focal species on soil spore density at plot level we used two complementary  
206 analyses: (1) a canonical correspondence analysis (CCA) using the relative abundance of the  
207 focal plant species per plot and plot level spores density; and (2) a GLM for each focal plant  
208 species considering all explanatory variables for the respective subset of plots where each  
209 species occurred. For GLMs at species level, the Bonferroni correction was adopted to avoid  
210 type I errors, and  $p < 0.005$  was adopted as the probability value.

211 GLMs were also used to investigate the effects of our explanatory variables (chronic  
212 anthropogenic disturbance index, rainfall and soil available phosphorus, pH and organic  
213 matter) on mycorrhizal colonization frequency at species and plot level. A GLM that included  
214 all explanatory variables was used for each species (species level analysis). Again, we used  
215 the Bonferroni correction to avoid type I errors and adopted a probability criterion of  $p <$   
216 0.005 for species level colonization frequency. To evaluate the variation of colonization

217 frequency within and across species we used a nested ANOVA, in which plant species was  
218 considered a nested factor within plot. Colonization frequencies (expressed as percentages)  
219 were transformed prior to statistical analysis using the following equation  $\sqrt{\arccosine(x)}$   
220 (Frosi et al., 2016a). Data were analysed using R Studio (Version 1.1.463) with the “*lme4*”  
221 package (Bates et al., 2019) for GLM and the “*vegan*” package (Oksanen et al., 2019) for  
222 CCA.

223

### 224 **3. Results**

#### 225 *3.1. AMF spore density in the soil*

226 Across plots, soil AMF spore density ranged from 0.31 to 2.03 spores/g (~7 fold  
227 variation) and averaged  $1.0 \pm 0.6$  spores/g. Spore density at the plot level was not correlated  
228 with disturbance, rainfall, or soil available phosphorus, pH or organic matter content (GLM,  $p$   
229  $> 0.15$ ). It was not revealed any significant relationship between the abundance of focal  
230 species and spore density by either CCA or GLM analyses.

231

#### 232 *3.2. AMF root colonization*

233 At species level, AMF mycorrhizal structures, such as spores, hyphae and vesicles,  
234 occurred in each of the focal plant species, with a minimum frequency of one colonized plant  
235 individual per species per plot and a maximum of all sampled individuals of a given species in  
236 all plots (e.g. *Erythroxylum revolutum* and *Trischidium molle*). Species colonization frequency  
237 (as calculated based on colonized root fragments) varied greatly within and across species,  
238 with a mean colonization frequency per species of ~50% (Table 1). For *Cnidoscolus*  
239 *pubescens*, colonization frequency was related to environmental conditions, responding  
240 positively to rainfall, and soil available phosphorus and pH, while responding negatively to  
241 disturbance and soil organic matter content (GLM,  $p < 0.005$ , Table 2).

242

243 **Table 1.** Arbuscular mycorrhizal colonization frequency per species for nine focal tree species across  
 244 18 plots in the Caatinga dry forest, Brazil. The range indicates the colonization variation within the  
 245 individuals of each species. The average indicates mean values of root colonization per species ( $\pm$ SD).

Species	AMF root colonization range (%)	AMF root colonization average (%)
<i>Cenostigma microphyllum</i> (Mart. ex G. Don) E. Gagnon & G. P. Lewis)	16.7 – 94.0	46.9 $\pm$ 5.7
<i>Trischidium molle</i> (Benth.) H. E. Ireland	20.0 – 89.0	59.0 $\pm$ 6.5
<i>Jatropha mutabilis</i> (Pohl) Baill.	3.0 – 79.9	49.6 $\pm$ 8.3
<i>Cnidocolus pubescens</i> Pohl	29.8 – 84.0	56.1 $\pm$ 5.5
<i>Colicodrendron yco</i> Mart.	7.6 – 84.7	55.4 $\pm$ 8.5
<i>Pityrocarpa moniliformis</i> (Benth.) Luckow & R. W. Jobson	9.5 – 82.7	39.1 $\pm$ 5.5
<i>Commiphora leptophloeos</i> (Mart.) J. B. Gillett	7.1 – 78.7	58.4 $\pm$ 9.6
<i>Annona leptopetala</i> (R.E.Fr.) H. Rainer	3.4 – 85.0	45.3 $\pm$ 12.4
<i>Erythroxyllum revolutum</i> Mart.	3.2 – 53.0	37.1 $\pm$ 9.6

246

247 For the remaining eight species, colonization frequency was not correlated with either  
 248 disturbance, rainfall, or soil phosphorous availability, pH or organic matter content, nor was it  
 249 correlated with the interactions between these variables (GLM, all  $p > 0.005$ ). A nested  
 250 ANOVA showed no difference in colonization frequency at species level ( $p = 0.07$ ), but did  
 251 show a difference at plot level ( $p < 0.001$ ) with no clear pattern related to the direction of  
 252 response.

253

254

255

256

257

258

259

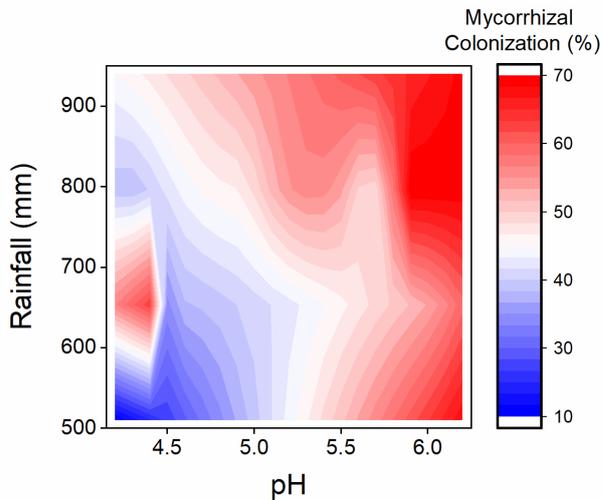
260 **Table 2.** Results of general linear models (GLM) examining the separate and combined influences of  
 261 chronic anthropogenic disturbances, rainfall, and soil available phosphorus (P), pH and organic matter  
 262 (OM) on the frequency of arbuscular mycorrhizal colonization in nine focal tree species across 18  
 263 plots in the Caatinga dry forest, Brazil. For *Cnidoscolus pubescens*, we have presented GLM results  
 264 for the 11 plots in which it occurred. For each variable, we have indicated the mean coefficient ( $\beta$ ), the  
 265 mean coefficient standard error (SE  $\beta$ ), the 95% confidence intervals (95% CI) and the p-value.  
 266 Significant results ( $p < 0.05$  for community level and  $p < 0.005$  for species level) are in bold.

Species/Variable	$\beta$	SE $\beta$	CI -95%	CI +95%	p-value
<i>Average Mycorrhizal Colonization</i>					
Disturbance	-0.19	0.21	-0.64	0.26	0.37
Rainfall	0.65	0.21	0.20	1.10	<b>0.01</b>
P	-0.07	0.22	-0.54	0.40	0.75
Organic matter	-0.25	0.22	-0.73	0.24	0.29
pH	0.62	0.20	0.20	1.05	<b>0.01</b>
Rainfall $\times$ pH	0.65	0.19	0.25	1.05	<b>0.00</b>
<i>Cnidoscolus pubescens</i>					
Disturbance	-1.07	0.21	-1.62	-0.53	<b>0.002</b>
Rainfall	1.07	0.16	0.67	1.48	<b>0.004</b>
P	0.84	0.16	0.43	1.25	<b>0.001</b>
Organic matter	-0.63	0.13	-0.96	-0.31	<b>0.003</b>
pH	1.05	0.15	0.66	1.45	<b>0.004</b>
Disturbance $\times$ Rainfall $\times$ P $\times$ OM	-1.71	19.57	-56.05	52.63	0.93
Disturbance $\times$ Rainfall $\times$ P $\times$ pH	2.11	0.62	0.40	3.83	0.03
Disturbance $\times$ Rainfall $\times$ P $\times$ OM $\times$ pH	8.99	9.56	-17.54	35.53	0.40
Disturbance $\times$ P $\times$ OM $\times$ pH	-15.63	6.66	-34.10	2.85	0.08
Rainfall $\times$ P $\times$ OM $\times$ pH	4.16	1.54	-0.11	8.44	0.05
Disturbance $\times$ Rainfall $\times$ P $\times$ OM $\times$ pH	2.76	27.15	-72.62	78.14	0.92

267

268 Finally, at forest stand or plot level (i.e. pooling all root fragments from the nine focal  
 269 species in each plot), colonization frequency varied between 8.9 and 86.9% (an almost 10-  
 270 fold variation) across the 18 plots (Table S3 Supplementary material). Colonization frequency  
 271 was positively correlated with rainfall and soil pH, with a significant interaction between

272 these two variables (GLM,  $p < 0.05$ , Table 2). Plants in acid soils (low pH) that receive little  
 273 rainfall had the lowest colonization frequencies (Fig. 2).



274

275 **Fig. 2.** Contour plot showing model results for the interactive effects of rainfall and soil pH on the  
 276 mean frequency of arbuscular mycorrhizal colonization for nine focal tree species across 18 plots in  
 277 the Caatinga dry forest, Brazil.

278

#### 279 4. Discussion

280

Our results suggest that soils in human-modified landscapes of the Caatinga dry forest  
 281 support variable, but relatively low AMF spore densities. In contrast to our expectation, spore  
 282 density was not affected by chronic anthropogenic disturbance, rainfall or soil attributes.  
 283 Despite these relatively low spore densities, AMF symbiosis appear to be widespread in such  
 284 landscapes as all our focal species exhibited some level of root colonization. Disturbance,  
 285 rainfall and soil attributes appear to have little effect on AMF colonization at species level, as  
 286 we only observed the effects of these factors on a single species, *Cnidoscolus pubescens*.  
 287 However, AMF colonization at community or forest stand level is positively affected by both  
 288 rainfall and soil pH, as well as their interaction. In synthesis, AMF symbiosis is a conspicuous  
 289 interaction in human-modified landscapes of the Caatinga dry forest over sandy soils, being  
 290 mediated by soil attributes and rainfall.

291

Our findings indicate low AMF spore densities compared to other areas of the Caatinga  
 292 (e.g. 4–6 spores/g of soil, Mergulhão et al., 2007; Silva et al., 2014), but within the range

293 found by others for this ecosystem (i.e. < 2 spores/g of soil, Silva et al., 2001; Souza et al.,  
294 2003). Higher spore densities have been found in the Caatinga dry forest in less acid and clay-  
295 based soils (i.e. crystalline basement) (Souza et al., 2003; Mello et al., 2012; Silva et al.,  
296 2014), suggesting soil attributes as key drivers of spore persistence and density. Thus, a  
297 combination of soils with high sand content (i.e. low water retention) and low pH, in addition  
298 to the frequent long-lasting droughts (Yang et al. 2011), apparently reduces spore densities.

299         Although our landscape supports low spore densities (i.e. low potential for AMF  
300 colonization), it was documented high rates of root colonization (i.e. 50% for most species)  
301 across a wide range of conditions regarding human disturbance, rainfall and soil attributes. It  
302 is well known that across dry forests, such as the Caatinga, AMF species are able to produce  
303 more hyphae and increase fungal mycelium in drier areas (Augé, 2001; Ruiz-Lozano, 2003),  
304 increasing water and nutrient uptake as well as foliar photosynthesis activity (Zhang et al.,  
305 2016). However, it is important to mention that AMF colonization has been proposed to  
306 decrease under extremely severe water restriction (Augé, 2001). Apparently, some plant  
307 species are not able to maintain intense symbioses through long drought events due to reduced  
308 assimilated carbon, i.e. in such severe limiting conditions, the production of photoassimilates  
309 becomes low and it is no longer viable for the plant to provide them to the fungi (Barros et al.,  
310 2018). Our findings add some evidence for the negative effect of severe water restriction on  
311 AMF-plant symbiosis as root colonization was negatively affected by rainfall at the forest  
312 stand level. Therefore, it is expected that plants can better afford the metabolic costs imposed  
313 by AMF symbioses when under suitable conditions for plant growth (Frosi et al., 2016a),  
314 which results in more frequent, intense and diversified associations (Souza et al., 2016).

315         Finally, constant removal of forest biomass (i.e. chronic anthropogenic disturbance)  
316 apparently has no negative impact on plant-AMF symbiosis in the Caatinga dry forest.  
317 However, other human-driven disturbances may affect plant-AMF symbiosis. For example,

318 the Caatinga is expected to experience a significant decrease in rainfall associated with  
319 anthropogenic climate change (IPCC, 2014). According to our findings, this is not a  
320 promising scenario for plant-AMF symbiosis in the Caatinga dry forest, at least in terms of  
321 colonization frequency, since plants are unable to maintain symbiosis in the face of extreme  
322 drought conditions (Augé, 2001; Frosi et al., 2016a). This scenario is even more concerning  
323 when considering that AMF encompasses an immense number of fungus species (Van der  
324 Heijden et al., 1998; Silva et al., 2014; Marinho et al., 2019), which collectively cover a wide  
325 range of both natural and disturbed habitats, including acid/impoverished soils (Van der  
326 Heyde et al., 2017; Guadarrama et al., 2014), as documented here. It supports AMF symbiosis  
327 as a mechanism of ecosystem resilience under threat from chronic anthropogenic disturbance  
328 and climate change.

329 In this ecological context, it is worth mentioning that *Pityrocarpa monifilormis*, which  
330 exhibited a colonization frequency of 39%, has been considered a proliferating, disturbance-  
331 adapted tree species, accounting for 15% of forest aboveground biomass in our focal  
332 landscape (Rito et al., 2017; Souza et al., 2019). This key ecological role can be extended to  
333 other focal species (e.g. *Cenostigma microphyllum*, *Jatropha mutabilis*, *Cnidoscopus*  
334 *pubescens*, and *Trischidium mole*), as collectively, they represent a substantial portion of  
335 forest biomass and stem abundance (see Table S1, Rito et al. 2017; Souza et al., 2019). As the  
336 Caatinga dry forest is an ancient biota (late Miocene) with many lineages that spread through  
337 other dry forest biotas across the American continent (Queiroz et al., 2017), it seems  
338 reasonable to assume that plant-AMF symbiosis has a long evolutionary history, allowing this  
339 dry forest to cope with very harsh conditions such as impoverished, desiccated, acid soils and  
340 frequent droughts. This suggests plant-AMF symbioses will play an important role in the  
341 current scenario of changes in land use and regional climate in the Caatinga dry forest, with  
342 unknown impacts on forest resilience (Brodie et al., 2012; Martínez-Gacía et al., 2012).

343 In synthesis, plant-AMF symbiosis seems to be an important element of the Caatinga  
344 dry forest as it is present across the most abundant and widely distributed woody plant species  
345 and in a wide range of ecological conditions in terms of chronic anthropogenic disturbance,  
346 rainfall and soil attributes. Despite the occurrence of sites supporting low soil spore densities,  
347 species and stand level colonization frequency can be considered high, showing the efficiency  
348 of spores in establishing symbioses with plants. Moreover, plant-AMF symbiosis responds to  
349 some soil attributes (particularly pH), rainfall and the presence of particular plants, with more  
350 alkaline and humid habitats supporting higher levels of plant colonization. Such a close  
351 relationship probably represents a key asset for Caatinga resilience in a context of land use  
352 and climate change, and as such deserves further investigation.

353

#### 354 **Acknowledgment**

355 This study was supported by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e  
356 Tecnológico (CNPq) (PELD process 403770/2012-2 and Universal process 470480/2013-0)  
357 and the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) (Finance  
358 Code 001 and PROBRAL CAPES-DAAD process 99999.008131/2015-05). S. Pereira thanks  
359 CAPES for doctorate scholarship in Brazil and for sandwich doctorate scholarship to  
360 Germany. I. Leal, M. Tabarelli and M. Santos are grateful to CNPq for productivity grants. M.  
361 Tabarelli also thanks the Alexander von Humboldt Foundation for supporting research in the  
362 Caatinga dry forest.

363

364

365

366

367

368 **References**

- 369 Alguacil, M.M. et al. 2011. Plant type differently promote the arbuscular mycorrhizal fungi  
370 biodiversity in the rhizosphere after revegetation of a degraded, semiarid land. *Soil*  
371 *Biol. Biochem.* 43, 167-173.
- 372 Allen, K., et al. 2017. Will seasonally dry tropical forests be sensitive or resistant to future  
373 changes in rainfall regimes? *Environ. Res. Lett.* 12, 023001.
- 374 Arnan, X., et al. 2018. A framework for deriving measures of chronic anthropogenic  
375 disturbance: surrogate, direct, single and multi-metric indices in Brazilian Caatinga. *Ecol.*  
376 *Indic.* 94: 274–282.
- 377 Augé R.M. et al. 1992. Symplastic sugar and free amino acid molality of *Rosa* roots with  
378 regard to mycorrhizal colonization and drought. *Symbiosis* 12, p. 1-17.
- 379 Augé, R.M. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis.  
380 *Mycorrhiza* 11, 3-42.
- 381 Barros, V., et al. 2018. Arbuscular mycorrhizal fungi improve photosynthetic energy use  
382 efficiency and decrease foliar construction cost under recurrent water deficit in woody  
383 evergreen species. *Plant Physiol. Biochem.* 127, 469-477.
- 384 Bates, D. et al. 2019. Linear Mixed-Effects Models using 'Eigen' and S4. R package version  
385 1.1-21. (<https://github.com/lme4/lme4/>).
- 386 Bivand, R., Lewin-Koh, N. 2015. Maptools: tools for reading and handling spatial 480  
387 objects. R package version 0.8-37. (<http://CRAN.R-project.org/package=maptools>).
- 388 Brodie, J; Post, E.; Laurance, W. F. 2012. Climate change and tropical biodiversity: a new  
389 focus. *Trends Ecol. Evol.* 27, 145-150.
- 390 Caravaca, F. et al. 2003. Establishment of shrubs species in a degraded semiarid site after  
391 inoculation with native or allochthonous arbuscular mycorrhizal fungi, *Appl. Soil*  
392 *Ecol.* 22, 103-111.

- 393 Dostálek, T., et al. 2013. The effect of AMF suppression on plant species composition in a  
394 nutrient-poor dry grassland. *PLoS One* 8, e80535.
- 395 Embrapa, 1997. *Manual de Métodos de Análise de Solo*, 2a. ed. Embrapa, Rio de Janeiro, RJ.
- 396 Felfili, J.M., Carvalho, F.A., Haidar, R.F. 2005. *Manual para o monitoramento de parcelas*  
397 *permanentes nos biomas cerrado e pantanal*. Universidade de Brasília, Departamento de  
398 Engenharia Florestal, Brasília, Brasil. 60p.
- 399 Frosi, G., et al. 2016a. Symbiosis with AMF and leaf  $P_i$  supply increases water deficit  
400 tolerance of woody species from seasonal dry tropical forest. *J. Plant Physiol.* 207, 84-93.
- 401 Frosi, G., et al. 2016b. Increase in biomass of two woody species from a seasonal dry tropical  
402 forest in association with AMF with different phosphorus levels. *Appl. Soil Ecol.* 102, 46-  
403 52.
- 404 García-Valdés, R., et al. 2015. Evaluating the combined effects of climate and land-use  
405 change on tree species distributions. *J. Appl. Ecol.* 52, 902-912.
- 406 Gavito, M.E., et al. 2008. High compatibility between arbuscular mycorrhizal fungal  
407 communities and seedlings of different land use types in a tropical dry ecosystem.  
408 *Mycorrhiza* 19, 47-60.
- 409 Gerdemann, J.W., Nicolson, T.H. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted  
410 from soil by wet sieving and decanting. *T. B. Mycol. Soc.* 46, 235-244.
- 411 Giovannetti, M., Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular  
412 arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.* 84, 489-500.
- 413 Guadarrama, P., et al. 2014. Arbuscular mycorrhizal fungal communities in changing  
414 environments: The effects of seasonality and anthropogenic disturbance in a seasonal dry  
415 forest. *Pedobiologia* 57, 87-95.
- 416 Hardie, K. 1985. The effect of removal of extraradical hyphae on water uptake by vesicular-  
417 arbuscular mycorrhizal plants. *New Phytol.* 101, 667-684.

- 418 van der Heijden, M.G.A., et al. 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant  
419 biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396, 69-72.
- 420 van der Heijden, M., et al. 2015. Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and  
421 the future. *New Phytol.* 205, 1406-1423.
- 422 van der Heyde, M., et al. 2017. Arbuscular mycorrhizal fungus responses to disturbance are  
423 context-dependent. *Mycorrhiza* 27, 431-440.
- 424 Hijmans, R.J., et al. 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land  
425 areas. *Int. J. Climatol.* 25, 1965-1978.
- 426 Hirota, M., et al. 2011. Global resilience of tropical forest and savanna to critical transitions.  
427 *Science* 334, 232-235.
- 428 IPCC, 2014. *Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part B: Regional*  
429 *Aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the*  
430 *Intergovernmental Panel on Climate Change.* [Barros, V.R., C.B. Field, D.J. Dokken,  
431 M.D. Mastrandrea, K.J. Mach, T.E. Bilr, M. Chatterjee, K.L. Ebi, Y.O. Estrada, R.C.  
432 Genova, B. Girma, E.S. Kissel, A.N. Levy, S. Maccracken, P.R. Mastrandrea; L.L. White  
433 (eds.)].: Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY,  
434 USA, 2014.
- 435 Jenkins, W.R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from  
436 soil. *Plant Dis. Rep.* 48, 692.
- 437 Karanika, E.D., et al. 2008. Global Resilience of Tropical Forest and Savanna to Critical  
438 Transitions. *Plant Ecol.* 199, 225-234. Kawahara, A., et al. 2016. Nestedness in arbuscular  
439 mycorrhizal fungal communities along soil pH gradients in early primary succession:  
440 acid-tolerant fungi are pH generalists. *PLoS ONE* 11, e0165035.
- 441 Koske, R.E., Gemma, J.N. 1989. A modified procedure for staining roots to detect VA  
442 mycorrhizas. *Mycol. Res.* 92, 486-488.

- 443 Leal, L.C., et al. 2014. Anthropogenic disturbance reduces seed-dispersal services for  
444 myrmecochorous plants in the Brazilian Caatinga. *Oecologia* 174, 173-181.
- 445 Mair, L., et al. 2014. Abundance changes and habitat availability drive species' responses to  
446 climate change. *Nat. Clim. Change* 4, 127-131.
- 447 Malhi, Y., et al. 2014. Tropical Forests in the Anthropocene. *Annu. Rev. Environ. Resour.* 39,  
448 125-59.
- 449 Marengo, J.A., Bernasconi, M. 2015. Regional differences in aridity/drought conditions over  
450 Northeast Brazil: present state and future projections. *Clim. Change* 129, 103-105.
- 451 Marinho, F., et al. 2019. High diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in natural and  
452 anthropized sites of a Brazilian tropical dry forest (Caatinga). *Fungal Ecol.* 40, 82-91.
- 453 Martínez-García, L.B., Miranda, J.D., Pugnaire, F.I. 2012. Impacts of changing rainfall  
454 patterns on mycorrhizal status of a shrub from arid environments. *Eur. J. Soil Biol.* 50,  
455 64–67.
- 456 Mello, C.M.A., et al. 2012. Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em área de  
457 Caatinga, PE, Brasil. *Acta Bot. Bras.* 26, 938-943.
- 458 Meng, L., et al. 2015. Arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobium facilitate nitrogen uptake  
459 and transfer in soybean/maize intercropping system. *Front. Plant Sci.* 6, 339.
- 460 Mergulhão, A.C.E.S., et al. 2007. Potencial de infectividade de fungos micorrízicos  
461 arbusculares em áreas nativas e impactadas por mineração gesseira no semi-árido  
462 brasileiro. *Hoehnea* 34, 341-348.
- 463 Miranda, J.C.C., Miranda, L.N. 2001. Seleção e recomendação de uso de espécies de fungos  
464 micorrízicos arbusculares. Planaltina, DF: EMBRAPA-CPAC. 3p. EMBRAPA-CPAC  
465 (technical release).
- 466 Oksanen, J. et al. 2019. Community Ecology Package. R package version 2.5-6.  
467 (<https://cran.r-project.org>, <https://github.com/vegandevs/vegan>).

- 468 Oliveira, F. M. P., et al. 2019. Effects of increasing aridity and chronic anthropogenic  
469 disturbance on seed dispersal by ants in Brazilian Caatinga. *J. Anim. Ecol.* 88, 870-  
470 880.
- 471 Pánková, H., et al. 2018. Arbuscular mycorrhizal fungi and associated microbial communities  
472 from dry grassland do not improve plant growth on abandoned field soil. *Oecologia* 186,  
473 677-689.
- 474 Parmesan, C., Yohe, G. 2003. A globally coherent fingerprint of climate change impacts  
475 across natural systems. *Nature*. 421, 37-42.
- 476 Pennington R.T., Lavin, M., Oliveira-Filho, A. 2009. Woody plant diversity, evolution, and  
477 ecology in the tropics: perspectives from seasonally dry tropical forests *Annu. Rev. Ecol.*  
478 *Evol. Syst.* 40, 437–57.
- 479 Porcel, R., et al. 2003. Antioxidant activities in mycorrhizal soybean plants under drought  
480 stress and their possible relationship to the process of nodule senescence. *New Phytol.*  
481 157, 135-143.
- 482 Porcel, R., et al. 2004. Evaluation of the role of genes encoding for D1-pyrroline-5-  
483 carboxylate synthetase (P5CS) during drought stress in arbuscular mycorrhizal  
484 *Glycine max* and *Lactuca sativa* plants. *Physiol. Mol. Plant P.* 65, 211–221.
- 485 Queiroz, L.P., et al. 2017. Diversity and Evolution of Flowering Plants of the Caatinga  
486 Domain. In: Silva, J.M.C., Leal, I.R., Tabarelli, M., 2017. *Caatinga: The Largest Tropical*  
487 *Dry Forest Region In South America*. Springer, Switzerland, pp 23-63.
- 488 Ribeiro, E.M.S., et al. 2019. Functional diversity and composition of Caatinga woody flora  
489 are negatively impacted by chronic anthropogenic disturbance. *J. Ecol.* 107, 2291-  
490 2302.
- 491 Rillig, M.C., Mummey, D.L. 2006. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytol.* 171, 41-53.

- 492 Rito, K.F., et al. 2017. Precipitation mediates the effect of human disturbance on the Brazilian  
493 Caatinga vegetation. *J. Ecol.* 105, 828-838.
- 494 Rubenstein, D. I. 1992. The greenhouse effect and changes in animal behavior: Effects on  
495 social structure and life-history strategies. *Global Warming and Biological Diversity*, R.  
496 L. Peters and T. E. Lovejoy, Eds., Yale University Press, 180-192.
- 497 Ruiz-Lozano, J.M., Azcón, R. 1995. Hyphal contribution to water uptake in mycorrhizal  
498 plants as affected by the fungal species and water status. *Physiol. Plant.* 95, 472-478.
- 499 Ruiz-Lozano, J.M., et al. 1995 Influence of different *Glomus* species on the time-course of  
500 physiological plant responses of lettuce to progressive drought stress periods. *Plant*  
501 *Sci.* 110, 37-44.
- 502 Ruiz-Lozano, J. M. et al. 2001. Arbuscular mycorrhizal symbiosis can alleviate drought-  
503 induced nodule senescence in soybean plants. *New Phytol.* 151, 493-502.
- 504 Ruiz-Lozano, J.M. 2003. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress.  
505 New perspectives for molecular studies. *Mycorrhiza* 13, 309-317.
- 506 Santos, M.G., et al. 2014. Caatinga, the Brazilian dry tropical forest: can it tolerate climate  
507 changes? *Theor. Exp. Plant Phys.* 26, 83-99.
- 508 Schulz, K., et al. 2016. Grazing deteriorates the soil carbon stocks of Caatinga forest  
509 ecosystems in Brazil. *Forest Ecol. Manag.* 367, 62-70.
- 510 Silva, G.A., et al. 2001. Potencial de infectividade de fungos micorrízicos arbusculares  
511 oriundos de área de caatinga nativa e degradada por mineração, no Estado da Bahia,  
512 Brasil. *Revta Brasil. Bot.* 24, 135-143.
- 513 Silva, I.R., et al. 2014. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi along an environmental  
514 gradient in the Brazilian semiarid. *Appl. Soil Ecol.* 84, 166-175.
- 515 Silva, J.M.C.; Leal, I.R.; Tabarelli, M. 2017. Caatinga The Largest Tropical Dry Forest  
516 Region in South America. Springer International Publishing, Cahm. p.482.

- 517 Silva, J.L.S., et al. 2019. Climate change will reduce suitable Caatinga dry forest habitat for  
518 endemic plants with disproportionate impacts on specialized reproductive strategies.  
519 PLoS One 14, e0217028.
- 520 Singh, S.P. 1998. Chronic disturbance, a principal cause of environmental degradation in  
521 developing countries. *Environ. Conserv.* 25, 1-2.
- 522 Smith, S.E., Read, D.J (eds). 2008. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, Inc., San Diego,  
523 USA.
- 524 Souza, R.G., et al. 2003. Diversidade e potencial de infectividade de fungos micorrízicos  
525 arbusculares em área de caatinga, na Região de Xingó, Estado de Alagoas, Brasil. *Revista*  
526 *Brasil. Bot.* 26, 49-60.
- 527 Souza, T.A.F., et al. 2016. Arbuscular mycorrhizal fungi in *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir  
528 from Brazilian semi-arid. *Braz. J. Microbiol.* 47, 359-366.
- 529 Souza, D.G., et al. 2019. Multiple drivers of aboveground biomass in a human-modified  
530 landscape of the Caatinga dry forest. *Forest Ecol. Manag.* 435, 57-65.
- 531 Tabarelli, M., et al. 2010. Prospects for biodiversity conservation in the Atlantic Forest:  
532 Lessons from aging human-modified landscapes. *Biol. Conserv.* 143, 2328-2340.
- 533 Uibopuu, A., et al. 2009. Differential effect of arbuscular mycorrhizal fungal communities  
534 from ecosystems along management gradient on the growth of forest understorey plant  
535 species. *Soil Biol. Biochem.* 41, 2141-2146.
- 536 Vályi, K., et al. 2016. Community assembly and coexistence in communities of arbuscular  
537 mycorrhizal fungi. *ISME J.* 10, 2341-2351.
- 538 van Aarle, I.M. Olsson, P.A., Söderström, B. 2002. Arbuscular mycorrhizal fungi respond to  
539 the substrate pH of their extraradical mycelium by altered growth and root colonization.  
540 *New Phytol.* 155, 173-182.

- 541 Violi, H.A., et al. 2008. Disturbance changes arbuscular mycorrhizal fungal phenology and  
542 soil glomalin concentrations but not fungal spore composition in montane rainforests in  
543 Veracruz and Chiapas, Mexico. *Forest Ecol. Manag.* 254, 276-290.
- 544 Voříšková, A., et al. 2016. Effect of past agricultural use on the infectivity and composition of  
545 a community of arbuscular mycorrhizal fungi. *Agr. Ecosyst. Environ.* 221, 28-39.
- 546 Walther, G.R., et al. 2002. Ecological responses to recent climate change. *Nature* 16, 389-395.
- 547 Xu, X., et al. 2017. The influence of environmental factors on communities of arbuscular  
548 mycorrhizal fungi associated with *Chenopodium ambrosioides* revealed by MiSeq  
549 sequencing investigation. *Sci. Rep.* 7, 45734.
- 550 Yang, H., et al. 2011. Changes in soil organic carbon, total nitrogen, and abundance of  
551 arbuscular mycorrhizal fungi along a large-scale aridity gradient. *Catena* 87, 70-77.
- 552 Zangaro, W., et al. 2013. Root colonization and spore abundance of arbuscular mycorrhizal  
553 fungi in distinct successional stages from an Atlantic rainforest biome in southern  
554 Brazil. *Mycorrhiza* 23, 221-233.
- 555 Zhang, J., et al. 2016. Precipitation shapes communities of arbuscular mycorrhizal fungi in  
556 Tibetan alpine steppe. *Sci. Rep-UK.* 6, 23488.

## Supplementary Material

**Table S1.** Species investigated in this study with the respective family, number of plots where they occurred, total number of individuals and total biomass considering all plots where they occur within the Catimbau National Park, Brazil.

Species	Family	Number of plot in which the species occurs	Total individual density per species	Total aboveground biomass per species (kg)
<i>Cenostigma microphyllum</i>	Fabaceae	16	402	43549.8
<i>Pityrocarpa moniliformis</i>	Fabaceae	14	624	34049.1
<i>Jatropha mutabilis</i>	Euphorbiaceae	13	263	750.1
<i>Cnidoscolus pubescens</i>	Euphorbiaceae	13	114	3689.6
<i>Trischidium molle</i>	Capparaceae	12	105	3650.5
<i>Commiphora leptophloeos</i>	Fabaceae	11	32	10090.8
<i>Colicodendron yco</i>	Burseraceae	10	100	7705.2
<i>Annona leptopetala</i>	Annonaceae	9	37	870.5
<i>Erythroxylum revolutum</i>	Erythroxylaceae	7	49	1652.3

**Table S2.** Parameters used and number of collected individuals for the calculation of frequency of arbuscular mycorrhizal colonization in the Catimbau National Park, Brazil.

Parameters	Plots																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	
Rainfall (mm/year)	510	540	552	555	578	588	591	645	647	653	673	762	785	787	843	903	913	940	
Disturbance index	20.4	11.0	9.2	36.4	16.9	19.2	22.3	31.3	36.7	9.1	48.3	26.2	45.8	26.6	22.4	26.8	58.1	2.7	
Phosphorus in soil (mg dm <sup>-3</sup> )	53	57	25	38	38	21	49	46	44	57	73	47	62	44	75	49	39	31	
Soil pH	5	4.9	4.6	4.6	4.6	6.1	4.7	6.2	6.2	4.6	5.1	4.2	5.6	5.4	5.8	4.9	4.4	4.2	
Soil organic matter	17.6	20.5	6.7	17.6	8.3	7.24	16.5	7.07	9.14	16.0	9.14	4.8	47.4	4.48	42.4	8.3	27.9	21.7	
Spores (g soil)	5.7	3.1	7.6	5.2	5.2	10.2	17.8	7.3	12.2	3.3	4.9	11.9	11.1	20.3	7.8	4.3	13.9	13.6	
Species	Number of collected individuals																		
<i>Cenostigma microphyllum</i>	2	3	3	3	3	3	3			3		3	3	3	3	3			
<i>Trischidium mole</i>		2	3	3	3					2		2	3	3	2	3			3
<i>Jatropha mutabilis</i>	3	3	2	2	3		2			3		3	3	3	3				
<i>Cnidoscolus pubescens</i>	3	2	3		2	3		2	3	2	3	3	3						
<i>Colicodrendron yco</i>				2		2	3	2	3	2			3		3				
<i>Pityrocarpa moniliformis</i>	2	3	3	2	3		1			3		3	3				3	3	
<i>Commiphora leptophloeos</i>	3	3	2	3		3	3					2							
<i>Annona leptopetala</i>	2				3	2				2			3		3				3
<i>Erythroxyllum revolutum</i>			3			3	1						3					2	

**Table S3.** Frequency of arbuscular mycorrhizal colonization (%) per species and per plot in nine focal tree species across 18 plots in Catimbau National Park, Brazil. Mean  $\pm$  SD for species with 3 individuals per plot or individual percentage of colonization for species with 1 or 2 individuals per plot.

Plots	Species								
	<i>Cenostigma microphyllum</i>	<i>Trischidium molle</i>	<i>Jatropha mutabilis</i>	<i>Cnidoscolus pubescens</i>	<i>Colicodrendron yco</i>	<i>Pityrocarpa moniliformis</i>	<i>Commiphora leptophloeos</i>	<i>Annona leptopetala</i>	<i>Erythroxylum revolutum</i>
1	34.0/24.0		61.3 $\pm$ 36.3	37.3 $\pm$ 7.0		80.0/20.0	47.6 $\pm$ 24.4	20.0/92.0	
2	45.1 $\pm$ 21.2	37.5/76.0	18.3 $\pm$ 2.9	38.0/48.0		32.0 $\pm$ 22.3	78.7 $\pm$ 18.9		
3	62.7 $\pm$ 45.4	20.0 $\pm$ 12.1	24.0/0.0	34.0 $\pm$ 5.3		30.7 $\pm$ 18.0	62.5/0.0		28.2 $\pm$ 18.3
4	48.4 $\pm$ 5.3	56.6 $\pm$ 29.1	36.0/7.7		68.0/0.0	38.0/32.0	76.6 $\pm$ 27.2		
5	44.4 $\pm$ 22.1	43.3 $\pm$ 14.0	79.9 $\pm$ 25.9	37.5/22.0		33.2 $\pm$ 29.7		21.1 $\pm$ 13.0	
6	66.0 $\pm$ 17.8			56.7 $\pm$ 6.4	88.0/20.0		76.7 $\pm$ 15.0	12.0/0.0	53.3 $\pm$ 7.0
7	20.3 $\pm$ 14.8		6.0/0.0		7.5 $\pm$ 5.5	28.5	7.1 $\pm$ 7.7		9.5
8				84.0	40.0/100.0				
9				72.0 $\pm$ 24.9	84.7 $\pm$ 20.0				
10	34.3 $\pm$ 22.6	70.0/72.0	59.5 $\pm$ 44.4	79.1/0.0	78.0/0.0	32.1 $\pm$ 15.5		3.4/0.0	
11				61.0 $\pm$ 27.0					
12	16.7 $\pm$ 9.4	36.0/44.0	62.0 $\pm$ 19.7	64.7 $\pm$ 26.4		30.7 $\pm$ 31.0	60.0/0.0		
13	40.7 $\pm$ 26.4	62.0 $\pm$ 21.1	58.7 $\pm$ 36.3	55.3 $\pm$ 38.6	35.3 $\pm$ 11.0	46.7 $\pm$ 33.0		62.0 $\pm$ 5.3	51.8 $\pm$ 34.9
14	94.0 $\pm$ 5.3	88.7 $\pm$ 2.3	78.0 $\pm$ 26.9						
15	50.0 $\pm$ 33.3	98.0/80.0	78.7 $\pm$ 7.0		41.3 $\pm$ 36.0			78.0 $\pm$ 29.5	
16	58.1 $\pm$ 22.8	78.0 $\pm$ 13.8							
17	47.3 $\pm$ 21.6	49.0 $\pm$ 35.3							24.0/74.0
18		44.0 $\pm$ 18.3				82.7 $\pm$ 15.5		84.7 $\pm$ 12.7	

## ANEXO A – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

### **Periódico Forest Ecology and Management:**

*Disponível em:* <https://www.elsevier.com/journals/forest-ecology-and-management/0378-1127/guide-for-authors>

### **Periódico Forest Ecological Engineering:**

*Disponível em:* <https://www.elsevier.com/journals/ecological-engineering/0925-8574/guide-for-authors>