



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA

GABRIEL CASTRO FARIAS

BIOMETRIA E RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE FEIJÃO-DE-CORDA
INOCULADO COM FUNGOS ENDOFÍTICOS *DARK SEPTATE*
SOB ESTRESSE SALINO

FORTALEZA

2014

GABRIEL CASTRO FARIAS

**BIOMETRIA E RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE FEIJÃO-DE-CORDA
INOCULADO COM FUNGOS ENDOFÍTICOS *DARK SEPTATE*
SOB ESTRESSE SALINO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia Agrícola. Área de concentração: Irrigação e Drenagem.

Orientador: Prof. Dr. Claudivan Feitosa de Lacerda.

FORTALEZA

2014

GABRIEL CASTRO FARIAS

**BIOMETRIA E RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE FEIJÃO-DE-CORDA
INOCULADO COM FUNGOS ENDOFÍTICOS *DARK SEPTATE*
SOB ESTRESSE SALINO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia Agrícola. Área de concentração: Irrigação e Drenagem.

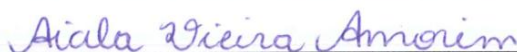
Aprovada em: 21 / 02 / 2014.

BANCA EXAMINADORA



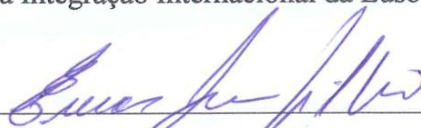
Prof. Dr. Claudivan Feitosa de Lacerda (Orientador)

Universidade Federal do Ceará (UFC)



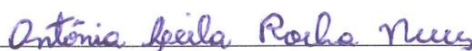
Profa. Dra. Aiala Vieira Amorim

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira



Prof. Dr. Enéas Gomes Filho

Universidade Federal do Ceará



Dra. Antônia Leila Rocha Neves

Universidade Federal do Ceará

AGRADECIMENTO

À Deus, pelo milagre da vida, por estar sempre presente em qualquer que seja o obstáculo a ser vencido e por conceder-me força para vencer mais um desafio.

Aos meus pais, que nunca mediram esforços para o meu crescimento profissional e pessoal, por todo amor, apoio, compreensão e por sempre estarem presentes e dispostos a ajudar-me. Pra vocês meu eterno e infinito amor e gratidão.

Aos meus familiares, que em mim depositaram suas melhores perspectivas.

À minha noiva, Kenya Nunes, por todo amor, apoio, cuidado, carinho, dedicação, companheirismo e pela alegria em minha vida.

À Universidade Federal do Ceará, pela oportunidade de realização e concretização desse trabalho.

Ao Professor Claudivan Feitosa de Lacerda, pela amizade, pela credibilidade concedida, pela orientação e conhecimentos científicos indispensáveis para a realização deste trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Engenharia Agrícola e da Estação Agrometeorológica da Universidade Federal do Ceará, pelo apoio.

Aos bolsistas do LABEM da UFMT, em especial ao William Cardoso pela ajuda dada durante todo o experimento.

A todos, que direta ou indiretamente, independente da função, grau de parentesco e ou instrução, contribuíram neste percurso. Sempre terão meus reconhecimentos e estarão em meus pensamentos. Muito obrigado!

RESUMO

Com o crescimento das áreas degradadas pelo processo de salinização dos solos se faz necessário o aumento do uso de insumos para que seja possível atingir uma produção aceitável. Visando a redução de tais insumos, estudos sobre microrganismos envolvidos no processo produtivo são cada vez mais constantes. O objetivo deste trabalho foi avaliar a resposta das associações entre fungos endofíticos Dark Septate e plantas de feijão-de-corda quando irrigado com águas de diferentes salinidades, analisando-se a biometria, troca gasosas, teores foliares de nutrientes e o acúmulo de solutos orgânicos nas folhas. As plantas de feijão-de-corda foram cultivadas em vasos de 5 litros, sob condições de casa de vegetação e submetidas a quatro diferentes condutividades elétricas da água de irrigação (1,2; 2,2; 3,6 e 5,0 dS m⁻¹). Para a inoculação foram utilizados as linhagens B'2 e 21W e os tratamentos foram os seguintes: F1 – plantas que não foram inoculadas; F2 – plantas inoculadas com a linhagem 21W e F3 – plantas inoculadas com a linhagem B'2. Durante a condução do experimento mediu-se as trocas gasosas e ao final do experimento as plantas foram coletadas e determinou-se a sua área foliar, massa seca da parte aérea, massa seca das raízes teores de nutrientes e solutos orgânicos foliares, bem como foi feita a determinação de colonização nas raízes pelo fungo. A salinidade provocou reduções significativas na biomassa, área foliar e trocas gasosas, contudo, a presença do fungo endofítico proporcionou uma maior tolerância aos efeitos negativos da salinidade. Houve um maior acúmulo de cálcio, sódio, cloro e fósforo em folhas de feijão-de-corda com o aumento da salinidade e uma diminuição dos teores de nitrogênio e potássio. A presença do fungo na planta proporcionou maior teor foliar de fósforo e nitrogênio.

Palavras-chave: Estresse abiótico. Interação planta-fungo. Tolerância à salinidade.

ABSTRACT

With the increasing of areas degraded by soil salinization process, is necessary to increase of agricultural investments to be able to reach a production acceptable. In order to reduce such inputs, studies of microorganisms involved in the production process are becoming more constant. The objective of this study was to evaluate the associations between endophytic fungi Dark Septate and cowpea plants when irrigated with water of different salinities, analyzing biometrics, gas exchange, nutrient content and accumulation of organic solutes in the leaves. Cowpea plants were grow in containers of five liters under greenhouse conditions and subjected to four different electrical conductivity of irrigations water (1.2; 2.2; 3.6; 5.0 dS m⁻¹). Were used for the inoculation strains B'2 and 21W and treatments were as follows: F1 – plants that were not inoculated; F2 – plants inoculated with strains 21W and F3 – plants inoculated with strain B'2. during the experiment was measured gas exchange and at the end of the experiment the plant were collected and determinate the leaf area, shoot dry mass, root dry mass, concentration of the foliar nutrients and organic solutes, and was made the determination colonization of roots by the fungus. The salinity caused significant reductions in biomass, leaf area and leaf gas exchange, however, the presence of the endophytic fungi provided a large tolerance to the adverse effects of salinity. There was a larger accumulation of calcium, sodium, clore and phosphorus in cowpea leaves with increasing salinity and decrease in the leaves of nitrogen and potassium. The presence of the fungus in the plant provided a foliar phosphorus and nitrogen.

Keywords: Abiotic Stress. Plant-fungi interaction. Salt tolerance.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Área foliar em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações em plantas de feijão-de-corda. Letras distintas indicam diferenças estatísticas pelo teste de tukey ($p < 0,05$).	27
Figura 2 –	Massa seca de raiz em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações em plantas de feijão-de-corda. Letras distintas indicam diferenças estatísticas pelo teste de tukey ($p < 0,05$).	28
Figura 3 –	Massa seca da parte aérea em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações em plantas de feijão-de-corda. Letras distintas indicam diferenças estatísticas pelo teste de tukey ($p < 0,05$).	28
Figura 4 –	Taxa fotossintética do feijão-de-corda aos 20 dias após o plantio em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações	32
Figura 5 –	Condutância estomática do feijão-de-corda aos 20 dias após o plantio em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações	33
Figura 6 –	Transpiração do feijão-de-corda aos 20 dias após o plantio em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações	34
Figura 7 –	Taxa fotossintética do feijão-de-corda aos 57 dias após o plantio em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações. Letras distintas indicam diferenças estatísticas pelo teste de tukey ($p < 0,05$).	35
Figura 8 –	Condutância estomática do feijão-de-corda aos 57 dias após o plantio em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações. Letras distintas indicam diferenças estatísticas pelo teste de tukey ($p < 0,05$).	36
Figura 9 –	Transpiração do feijão-de-corda aos 57 dias após o plantio em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações	36
Figura 10 –	Teores de cálcio em folhas de feijão-de-corda em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações	39
Figura 11 –	Teores de Potássio em folhas de feijão-de-corda em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações	40
Figura 12 –	Teores de sódio em folhas de feijão-de-corda em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações	41
Figura 13 –	Teores de cloreto em folhas de feijão-de-corda em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações	42

- Figura 14 – Teores de Fósforo em folhas de feijão-de-corda em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações. Letras distintas indicam diferenças estatísticas pelo teste de tukey ($p < 0,05$). 43
- Figura 15 – Teores de Nitrogênio em folhas de feijão-de-corda em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações. Letras distintas indicam diferenças estatísticas pelo teste de tukey ($p < 0,05$). 44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Atributos físicos e químicos do substrato	19
Tabela 2 – Composição da solução nutritiva utilizada no experimento	21
Tabela 3 – Valores sumarizados da análise de variância para a taxa de colonização em plantas de feijão-de-corda cultivadas sob diferentes níveis de salinidade e inoculações	25
Tabela 4 – Taxa de colonização pelo fungo endofítico Dark Septate nas raízes de feijão-de-corda nos diferentes tratamentos avaliados	26
Tabela 5 – Valores sumarizados da análise de variância para área foliar, massa seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR), em plantas de feijão-de-corda cultivadas sob diferentes níveis de salinidade e inoculações	27
Tabela 6 – Valores sumarizados da análise de variância para fotossíntese (A), Condutância estomática (gs) e transpiração (E), determinadas aos 20 (1) e 57 (2) dias após o plantio, em plantas de feijão-de-corda cultivadas sob diferentes níveis de salinidade e inoculações	31
Tabela 7 – Valores sumarizados da análise de variância para os teores foliares de Ca^{2+} , K^+ , P, N, Cl^- e Na^+ , em plantas de feijão-de-corda cultivadas sob diferentes níveis de salinidade e inoculações	38
Tabela 8 – Valores sumarizados da análise de variância para o acúmulos foliares de solutos orgânicos em plantas de feijão-de-corda cultivadas sob diferentes níveis de salinidade e inoculações	45

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1	Estresse abiótico em plantas	12
2.2	Fungos endofíticos Dark Septate	13
2.3	Uso de fungos endofíticos Dark Septate na agricultura	15
2.4	Importância da cultura do feijão-de-corda	16
3	MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1	Localização do Experimento	18
3.2	Substrato	18
3.3	Delineamento experimental e tratamentos	19
3.4	Sementes	20
3.5	Instalação e condução do experimento	20
3.6	Análises	21
3.6.1	Biometria	21
3.6.2	Trocas gasosas foliares	22
3.6.3	Teores de nutrientes minerais	22
3.6.4	Determinação de solutos orgânicos	23
3.6.5	Colonização e identificação das estruturas de fungos endofíticos Dark Septate	23
3.7	Análise de dados	24
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.1	Colonização e identificação das estruturas de fungo endofítico Dark Septate	25
4.2	Biometria	26
4.3	Trocas gasosas	30
4.4	Teores foliares de Ca²⁺, K⁺, P, N, Cl⁻ e Na⁺	38
4.5	Acúmulo de solutos orgânicos nas folhas	45
5	CONCLUSÕES	46
	REFERÊNCIAS	47

1 INTRODUÇÃO

O Brasil destaca-se mundialmente na produção de alimentos, produzindo cerca de 160 milhões de toneladas de cereais, oleaginosas e leguminosas, ocupando uma área agrícola correspondente a 60 milhões de hectares (IBGE, 2012). A liderança no setor, com destaque para várias atividades agrícolas, faz do país candidato a maior fornecedor de alimentos para o mundo na segunda quinzena deste século (FAO, 2002).

A eficiência na produção e o aumento da produtividade das culturas muitas vezes estão associados ao uso intensivo de fertilizantes e agrotóxicos. Segundo Ferreira e Gonçalves (2007), em 1950 o consumo de fertilizantes no Brasil era de 224 mil toneladas, havendo uma crescente utilização de mais de 10.000%, sendo este valor elevado a 22,764 milhões de toneladas em 2005.

Visando a redução da utilização de insumos na agricultura, estudos sobre ecologia dos organismos envolvidos no processo produtivo são cada vez mais constantes atualmente, uma vez que a sustentabilidade ambiental passou a ser quesito tão prioritário quanto produzir bem e com retorno econômico. Para Kitamura (2003), o futuro da agricultura brasileira, em direção à sustentabilidade, requer introdução de inovações na agricultura intensiva convencional, tornando-a cada vez mais responsável pelo meio ambiente.

Há vários tipos de interação entre plantas e microrganismos que podem favorecer, prejudicar ou não interferir no desenvolvimento da espécie vegetal. De acordo com Torsvisk *et al.* (2002), apesar da sabida diversidade e distribuição, há uma carência de conhecimentos entre os microrganismos do solo e suas relações e impactos no ambiente. Contudo, sabe-se que atuam de forma fundamental na coordenação dos ciclos biogeoquímicos e equilíbrio dos ecossistemas. Os estudos que enfocam a relação plantas-microrganismos são importantes, pois se observa um grande potencial biotecnológico (GOI; SOUZA, 2006), destacando-se a utilização como inoculantes e na biorremediação de ambientes.

Existe uma gama de microrganismos no solo associados a plantas e influenciados por elas por meio das raízes, na interface solo-raiz. Este ambiente de relação é conhecido como rizosfera, onde ocorre troca de componentes, existem pontos específicos de penetração e exposição de substâncias químicas, tornando a relação planta-microrganismo muito mais específica (AQUINO; ASSIS, 2005; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Vale também considerar a capacidade de uma espécie vegetal em influenciar determinada comunidade microbiana, especialmente em plantas de interesse agrícola.

Uma associação positiva para a agricultura é a simbiose entre os fungos endofíticos Dark Septate e os vegetais, sendo que já foram relatadas mais de 600 espécies de plantas que se associam com este tipo de fungo. Além disso, tem se verificado que a presença de fungos endofíticos Dark Septate ocorrem frequentemente quando em condições de presença também de micorrizas, sugerindo interação semelhante (LINGFEI *et al.*, 2005).

De acordo com Jumpponen (2001), estes fungos atuam como simbiontes, porém a associação deles com plantas depende das condições ambientais. Portanto, parece interessante estudar tais associações sob condições edáficas ambientais adversas, especialmente as que implicassem em situações de estresse, como condições de salinidade ou déficit nutricional. Para tanto, faz-se necessário estudos mais detalhados das interações ocorridas nessas condições, visando à obtenção de parâmetros que orientem para a melhor utilização destes fungos na agricultura.

Portanto, objetivou-se avaliar a resposta das associações entre fungos endofíticos Dark Septate e plantas de feijão-de-corda quando irrigadas com águas de diferentes níveis de salinidades, analisando-se a biometria, as trocas gasosas, os teores foliares de nutrientes e o acúmulo de solutos orgânicos nas folhas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Estresse abiótico em plantas

O estresse é, na maioria das definições existentes, um desvio das condições ótimas para a vida, o que origina mudanças e respostas nos organismos. Estas respostas que são inicialmente reversíveis podem, no entanto, tornar-se permanentes, mesmo se o acontecimento causador do estresse for temporário. A maioria dos agentes causadores de estresse abiótico é climática, e exercem seus efeitos na atmosfera e no solo (DIAS, 2008).

Elementos comuns de estresses abióticos, como temperatura e umidade, são importantes fatores ecológicos que servem de estímulos para desenvolvimento de mecanismos de resistência em plantas superiores (ECKARDT *et al.*, 2001; KENEDY; WILSON, 2004). As plantas desenvolveram estratégias únicas para responder a cada mudança ambiental, tentando se adaptar às condições do ambiente que as rodeiam, onde a severidade do estresse, a genética e a história individual determinam a sua sobrevivência ou morte (PASTORI; FOYER, 2002). Existe, portanto, interesse crescente da comunidade científica por compreender os mecanismos fisiológicos de resposta das plantas aos diversos estresses abióticos (ASHRAF; FOOLAD, 2007).

De modo geral, um solo é considerado salino quando a quantidade de sais existentes é capaz de prejudicar o desenvolvimento das plantas. Para a maioria das culturas isso ocorre quando a condutividade elétrica do extrato de saturação é igual ou superior a 2 dS m^{-1} (HOLANDA *et al.*, 2010). A salinidade do solo é um dos fatores que causam maior preocupação na agricultura moderna e o manejo inadequado da irrigação é um dos principais causadores de diminuição da qualidade dos solos degradados (EPSTEIN; BLOOM, 2006).

No mundo, estima-se que 19,5% das terras irrigadas, correspondentes a 45 milhões de hectares, e 2,1% das não irrigadas, equivalentes a 32 milhões de hectares, estejam afetadas pelos sais. A salinização dos solos é particularmente evidente nas regiões áridas e semiáridas, atingindo cerca de 25% das áreas irrigadas. Atualmente, estima-se que ocorra uma perda de 1,5 milhões de hectares de terras aráveis a cada ano devido ao acúmulo de sais. Dessa forma, a salinização tem sido identificada como o principal processo de degradação dos solos (FAO, 2006).

No Brasil, embora as informações sobre áreas salinas não estejam bem definidas, estima-se que 20 a 25% das áreas irrigadas enfrentam problemas de salinização. Este

problema é maior na região Nordeste, a qual possui uma área de 155 milhões de hectares, com 52% dessa superfície sendo classificada como semiárida (HOLANDA *et al.*, 2010).

Esforços têm sido feitos com o objetivo de controlar a salinidade através de meios técnicos, porém a recuperação de um solo inutilizado pelo excesso de sais ou em vias de inutilização, em geral, envolve grandes investimentos e somente em determinadas circunstâncias poderá ser economicamente viável (PRISCO, 1987). A seleção de práticas de manejo para recuperação de solos afetados por sais depende do diagnóstico correto da natureza e extensão dos problemas de salinidade, e também de condições ambientais favoráveis, que permitam a sua aplicação.

Em solos salinos e solos com altos teores de boro, a prática comum é o cultivo de plantas tolerantes, juntamente com gradagens e aplicações de altas lâminas de irrigação para lavagem de sais solúveis em excesso. Em solos sódicos, quando a infiltração é inadequada, opções de manejo são dirigidas para melhorar a condutividade hidráulica do solo. Assim, para melhorar as propriedades físicas do solo, podem ser utilizadas várias combinações de práticas de lavra, uso de corretivos e práticas culturais (GHEYI, 2000). Entretanto essas práticas são muito caras e o uso de espécies ou cultivares adaptáveis a tais condições adversas de solo pode ser uma estratégia promissora para melhorar a produção de alimentos. Nesse sentido, grande ênfase tem sido dada às pesquisas que tratam de aspectos fitotécnicos, tais como modificação das condições de cultivo e manejo adequado do ambiente em que as plantas são cultivadas e aumento da tolerância das culturas à salinidade, através da seleção e melhoramento genético e de domesticação de espécies selvagens (LACERDA *et al.*, 2003).

2.2 Fungos endofíticos *Dark Septate*

Fungos endofíticos conhecidos como *Dark Septate* são caracterizados por apresentarem pigmentação escura intensa, formarem hifas septadas e microescleródios que crescem inter e intracelularmente às células do córtex do vegetal (JUMPPONEN; TRAPPE 1998; BARROW; AALTONEN, 2001). Este grupo de fungos que apresenta ampla distribuição e é frequentemente encontrado em ambientes estressantes, como solos oligotróficos, incluem espécies comuns do solo como saprofitas, simbióticas, bem como patogênicas (BARROW; AALTONEN, 2001; MANDYAM; JUMPPONEN, 2005). Alguns autores têm sugerido que os fungos endofíticos *Dark Septate* sejam capazes de estabelecer associações semelhantes às que ocorrem com os fungos micorrízicos, atuando como agentes

de crescimento vegetal, principalmente por facilitarem a absorção de nutrientes (SCERVINO *et al.*, 2009; CHEN *et al.*, 2010), inclusive, atuando na produção de enzimas extracelulares, que são capazes de hidrolisar compostos de carbono, nitrogênio e fósforo (MANDYAM; JUMPPONEN, 2005). Tem sido sugerido que a melanização da parede celular fúngica e a produção de hifas melanizadas, representam fatores que contribui para a adaptação e sobrevivência do hospedeiro a condições de estresse, uma vez que a melanina teria um papel importante na eliminação de radicais de oxigênio gerados durante o estresse abiótico (REDMAN *et al.*, 2002). De uma forma geral, ao contrário dos fungos micorrízicos arbusculares, os fungos endofíticos Dark Septate não são biotróficos obrigatórios, o que torna possível seu cultivo e multiplicação em meio de cultura. Esse fato confere facilidade e rapidez ao isolamento e a estruturação de coleções fúngicas, processos de grande relevância para dar suporte às pesquisas futuras de avaliação do potencial como promotores de crescimento vegetal.

Estudos de campo mostram que o aumento de fungos endofíticos Dark Septate são observados e, especialmente comuns em ambientes estressantes, como os de frio, nutricionalmente pobres, ecossistemas alpinos ou subalpinos, ambientes com elevada salinidade e regiões polares (READ; HASELWANDTER, 1981; HAMBLETON; CURRAH, 1997; MANDYAM; JUMPPONEN, 2005; NEWSHAM *et al.*, 1999; SONJAK *et al.*, 2009). Mesmo em solos contaminados com metais pesados, como os do sudoeste da China, a maioria das plantas de revegetação natural são colonizadas por fungos endofíticos Dark Septate (LIANG *et al.*, 2007). Estudos mostraram ainda, que dentre, os fungos endofíticos, os Dark Septate são um dos fungos endofíticos mais comumente observados em associação com raízes em solos poluídos com metais pesados, como chumbo, zinco e cádmio (LIKAR; REGVAR, 2009), indicando sua tolerância inerente (ZHANG *et al.*, 2008) e baixa sensibilidade a esses metais pesados (GIBSON; MITCHELL, 2006).

Em uma revisão, Jumpponen e Trappe (1998) definiram os fungos endofíticos Dark Septate como fungos ascomycetos conidiais ou estéreis que colonizam raízes de plantas, sem causar efeitos negativos aparentes. No entanto, essa definição provavelmente inclui uma infinidade de fungos, cujas funções e afinidades taxonômicas parecem desconhecidas. Por não existir uma só definição que os diferenciem dos demais fungos, os fungos endofíticos Dark Septate comumente são conhecidos por um grupo de fungos mal definidos. O termo Dark Septate geralmente é aplicado sempre que hifas septadas melanizadas são observadas em raízes, quer inter ou intracelularmente. Claramente, os fungos endofíticos Dark Septate

formam associações simbióticas com as raízes de suas plantas hospedeiras. No entanto, restam dúvidas se suas associações podem ser consideradas mutualísticas ou com ocorrências ocasionais de parasitismo.

2.3 Uso de fungos endofíticos Dark Septate na agricultura

Evidências crescentes sugerem que os fungos endofíticos Dark Septate podem beneficiar suas plantas hospedeiras, facilitando a absorção de nutrientes minerais pelas plantas, incluindo P, N e água (HASELWANDTER; READ, 1982; MULLEN *et al.*, 1998; NEWSHAM, 1999; UPSON *et al.*, 2009), suprimir a infecção de fitopatógenos (NARISAWA *et al.*, 2000; BARROW, 2003) e aliviar os efeitos nocivos de ambientes severamente estressantes (TREU *et al.*, 1996), como ambientes com elevada salinidade.

Experimentos conduzidos por Usuki e Narisawa (2007), confirmam que fungos endofíticos Dark Septate (*Heteroconium chaetospora*) podem formar uma simbiose mutualística com couve chinesa (*Brassica campestris*) com troca de nutrientes (fungos associados fornecendo nitrogênio orgânico em troca de carbono do seu hospedeiro). Embora alguns aspectos controversos e especulativos, associações entre plantas e fungos endofíticos Dark Septate ainda são debatidas (MANDYAM; JUMPPONEN, 2005; PETERSON *et al.*, 2008; SMITH; READ, 2008). Também tem sido observado que os fungos endofíticos Dark Septate podem coexistir com fungos micorrízicos e produzir metabólitos capazes de aumentar a germinação, o crescimento e a ramificação de hifas desses fungos, beneficiando a planta hospedeira de forma indireta (SCERVINO *et al.*, 2009).

No Brasil, estudos recentes mostram que diversas espécies arbóreas e herbáceas, em área de cerrado em Minas Gerais (DETMANN *et al.*, 2008), e espécies aquáticas, coletadas em diferentes pontos da Bacia do Rio Paraná (MARINS *et al.*, 2009), são colonizadas por fungos endofíticos Dark Septate.

Além disso, em ambientes com baixa disponibilidade de alguns minerais, elevado gradiente de luminosidade, altos valores de radiação solar e altas temperaturas afetam a alocação de carbono das plantas e demanda grande investimento em estruturas subterrâneas e estratégias para superar condições estressantes (FRANCO; LUTTGE, 2002; LARCHER, 2004). A presença dos fungos endofíticos Dark Septate nas raízes das plantas é um tipo de associação que está relacionada a condições abióticas, como umidade e comprimento do dia (BARROW; AALTONEN, 2001).

O trabalho conduzido por Li *et al.* (2011) mostrou que a colonização por fungos endofíticos *Dark Septate* reduziu os efeitos deletérios do excesso de metais pesados e promoveu o crescimento do milho (raízes e brotos), sob essas condições, por restringir a translocação de íons de metais pesados das raízes à parte aérea, indicando uma estratégia eficiente para sobrevivência em ambientes estressantes.

2.4 Importância da cultura do feijão-de-corda e respostas à salinidade

O feijão-de-corda (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma cultura de grande importância devido a sua utilização como alimento básico. Seu consumo é feito na forma *in natura*, conserva ou desidratado. Também é utilizado na alimentação animal, sendo administrado como forragem verde, feno e silagem (QUIN, 1997). Seus maiores consumidores e produtores mundiais são Nigéria, Niger e Brasil (SINGH *et al.*, 2002).

No Brasil, as maiores áreas plantadas com o feijão-de-corda encontram-se na região Nordeste, onde a cultura desempenha função de destaque sócio econômico por ser uma fonte de proteína vegetal, além de fixar a mão de obra no campo (CARDOSO; RIBEIRO, 2006). O Ceará é o maior Estado produtor do Nordeste, com uma área plantada de 464.636 hectares e uma produção de 83.286 toneladas, no ano de 2010, o que representa cerca de 16% da produção nordestina (IBGE, 2011).

Essa cultura é tradicionalmente cultivada em condições de sequeiro, embora recentemente seu cultivo em perímetros irrigados tenha aumentado consideravelmente. Em relação à salinidade, o feijão-de-corda tolera, sem diminuir a sua produção, uma condutividade elétrica da água de irrigação de até $3,3 \text{ dS m}^{-1}$ (AYERS; WESTCOT, 1999), entretanto, a salinidade limiar pode variar, em função da existência de variabilidade genética (DANTAS *et al.*, 2002; COSTA *et al.*, 2003), como em função da nutrição, tipo de solo, condições climáticas, método de irrigação e fase de desenvolvimento da planta a qual ela foi submetida ao estresse salino.

Estudando os efeitos da irrigação com águas salinas em diferentes estádios de desenvolvimento do feijão-de-corda, Neves *et al.* (2009), concluíram que a aplicação de água salina com $5,0 \text{ dS m}^{-1}$ durante todo o ciclo da cultura, inibe e retarda o crescimento do feijão-de-corda. Outros estudos também mostram que a salinidade influencia negativamente o desenvolvimento do feijão-de-corda, tendo como características mais afetadas a área foliar e a massa seca da parte aérea (LIMA *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2009).

Assis Júnior *et al.* (2007), estudando a produtividade do feijão-de-corda em função da fração de lixiviação e da salinidade da água de irrigação, concluíram que a salinidade reduziu o crescimento vegetativo e a produtividade do feijão-de-corda e que essa redução deveu-se, em parte, às reduções da taxa de assimilação líquida do carbono associada aos efeitos osmóticos e acúmulo de íons potencialmente tóxicos nos tecidos foliares.

Silva *et al.* (2011), estudando os efeitos da irrigação com água salina no feijão-de-corda, observaram que o aumento dos níveis de salinidade da água de irrigação inibiram o crescimento inicial das plantas e a elevação da salinidade do solo, decorrente dessa irrigação, provocaram reduções na fotossíntese, transpiração e condutância estomática.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização do experimento

O experimento foi conduzido no período de novembro de 2012 a janeiro de 2013 em casa de vegetação do Departamento de Engenharia Agrícola localizada na área experimental da Estação Agrometeorológica da Universidade Federal do Ceará – CE, com coordenadas 3° 45'S; 38° 33'W e uma altitude média de 20 metros.

3.2 Substrato

O substrato utilizado foi areia de rio esterilizada por hipoclorito de sódio da seguinte forma: foi feita uma solução na proporção de 5 litros de hipoclorito de sódio, com concentração de cloro ativo de 2,0%, para cada 100 litros de água. Essa solução foi adicionada à areia em um recipiente fechado (caixa d'água) até atingir a saturação e formar uma lâmina de 5 cm sobre a areia. Posteriormente, a caixa d'água foi bem vedada com lona de polietileno preto por quatro dias. Após esse período a areia foi retirada da caixa d'água e transferida para uma superfície plana, sendo revolvida duas vezes por dia durante quatro dias. Finalizado esse processo a areia foi misturada com vermiculita em uma proporção de 1:1. As características físicas e químicas do substrato foram determinadas segundo a Embrapa (1997) e podem ser visualizadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Atributos físicos e químicos do substrato

Características	Valores
Areia grossa (g kg ⁻¹)	763
Areia fina (g kg ⁻¹)	201
Silte (g kg ⁻¹)	20
Argila (g kg ⁻¹)	16
Argila natural (g kg ⁻¹)	14
Classificação textural	Areia
Grau de floculação (g kg ⁻¹)	8,0
Densidade do solo (g cm ⁻³)	1,54
Densidade de partículas (g cm ⁻³)	2,59
pH em água	7,5
CE (dS m ⁻¹)	0,30
Na ⁺ (cmol _c kg ⁻¹)	0,11
C/N (g kg ⁻¹)	11,0
MO (g kg ⁻¹)	1,34

3.3 Delineamento Experimental e tratamentos

O experimento foi instalado utilizando o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x3, representado por quatro concentrações salinas da água de irrigação e a inoculação das plantas com os fungos endofíticos Dark Septate, foram utilizados o tratamento controle (sem inoculação) e as linhagens B'2 e 21W, pertencentes ao Laboratório de Biotecnologia e Ecologia Microbiana (LABEM) da Universidade Federal do Mato Grosso, Campus Cuiabá, Mato Grosso. O experimento foi conduzido com 10 repetições, totalizando 120 parcelas experimentais, sendo cada parcela representada por um vaso com uma planta.

Os níveis de salinidade da água de irrigação foram os seguintes: água do poço com condutividade elétrica (CE) de 1,2 dS m⁻¹ (S1); água com CE de 2,2 dS m⁻¹ (S2); água com CE de 3,6 dS m⁻¹ (S3) e água com CE de 5,0 dS m⁻¹ (S4). Para o preparo das soluções salinas, foram adicionados à água do poço os sais de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de cálcio (CaCl₂.2H₂O) e cloreto de magnésio (MgCl₂.6H₂O), dissolvidos na proporção 7:2:1, assumindo-se a relação existente entre a condutividade elétrica da água de irrigação e sua

concentração ($\text{mmolc L}^{-1} = \text{CE} \times 10$) proposta por Rhoades *et al.* (2000). As soluções salinas foram preparadas e acondicionadas em caixas de polietileno com capacidade de 60 litros, e foi utilizado condutivímetro portátil para fazer as mensurações e ajuste da condutividade elétrica de acordo com os tratamentos estabelecidos.

Para a inoculação foram utilizados as linhagens B'2 e 21W, e os tratamentos foram os seguintes: F1 - plantas que não receberam inoculação; F2 – plantas inoculadas com a linhagem 21W e F3 – plantas inoculadas com a linhagem B'2.

Os fungos endofíticos foram ativados em placas de batata, dextrose, agar (infusão de 200 g de batata, dextrose 20 g, agar 15 g e água q.s.p. 1000 mL) durante sete dias em temperatura ambiente.

3.4 Sementes

Foram utilizadas sementes de feijão-de-corda (*Vigna Unguiculata* (L.) Walp.), cultivar Setentão, obtidas junto ao banco de sementes do departamento de Fitotecnia – UFC.

3.5 Instalação e condução do experimento

Foi realizada uma pré-germinação em bandeja com areia de rio esterilizada para que se fosse retirada plantas mais uniformes para serem utilizadas no experimento. A adição dos fungos foi realizada aos cinco dias após a germinação, no momento da transferência das plântulas de feijão-de-corda para o vaso de 5 litros de volume, contendo areia esterilizada e vermiculita na proporção 1:1. A inoculação foi feita da seguinte forma: na cova onde foi colocada a plântula de feijão-de-corda havia dois pedaços de BDA com o fungo presente, fazia-se então com que a raiz do feijão-de-corda entrasse em contato com a superfície do BDA onde estava o fungo endofítico e então foi feita a cobertura da cova com o substrato. No tratamento controle foi feito o mesmo procedimento, mas o BDA utilizado estava autoclavado e sem nenhum fungo presente. Aos sete dias após a germinação iniciou-se a adubação, que se constituiu na aplicação de 250 mL por vaso de solução nutritiva de Hoagland (EPSTEIN, 1975), com aplicação feita semanalmente e cujos constituintes estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Composição da solução nutritiva utilizada no experimento

Constituinte	Quantidade (mL L ⁻¹)
KH ₂ PO ₄ 1M	1,0
KNO ₃ 1M	6,0
Ca(NO ₃) ₂ .5H ₂ O 1M	4,0
MgSO ₄ .7H ₂ O 1M	0,5
MICRO	1,0
Fe-EDTA	0,5

A irrigação foi realizada diariamente, e manteve-se o solo na capacidade de campo sendo feita uma adição na irrigação para se obter uma fração de lixiviação de 15% para que a água fosse percolada pelo fundo do vaso de acordo com Ayers e Westcot (1999), para que se evitasse o acúmulo excessivo de sais no substrato. A aplicação da água foi feita de forma localizada para que fosse evitado o seu contato direto com as folhas. A irrigação com a água com as diferentes salinidades foi iniciada aos 20 dias após o plantio e se manteve até o final do experimento.

3.6 Análises

3.6.1 Biometria

Aos 57 dias após o plantio, as partes aéreas das plantas foram coletadas e foi procedida a determinação da área foliar (LI – 3100, Area Meter, Li – Cor., In. Lincoln, Nebraska, USA). Em seguida, todo o material vegetal coletado foi colocado em sacos de papel identificadas e levados para secar em estufa de circulação forçada de ar, a 60°C até atingir massa constante para a determinação da massa seca da parte aérea. Após a coleta da parte aérea das plantas, o substrato de cultivo dos vasos foi coletado, sendo o seu conteúdo (solo e raiz) peneirado para que se fosse separado as raízes do solo. Em seguida, as raízes foram lavadas, identificadas e colocadas para secar em estufa, com circulação forçada de ar, a 75°C, até massa constante. Amostras de raízes foram coletadas separadamente para avaliação da colonização com os fungos endofíticos Dark Septate, conforme será descrito posteriormente.

3.6.2 Trocas gasosas foliares

A taxa de assimilação líquida de carbono (A), a taxa de transpiração (E) e a condutância estomática (gs) foram medidas aos 20 e aos 57 dias após o plantio, na primeira folha completamente madura a partir do ápice, com o auxílio de um analisador de gás no infravermelho (IRGA, LI-6400XT, Licor, USA), acoplado a uma fonte de radiação artificial com intensidade de $1.500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. As leituras foram feitas entre as 9:00 e 10:00 horas.

3.6.3 Teores de nutrientes minerais

A partir da matéria seca das folhas, que foram trituradas em moinho tipo Willey, obteve-se o extrato para a determinação dos teores de Na^+ , Ca^{2+} , K^+ e P. O extrato foi preparado utilizando 200 mg do pó moído diluído em 15 mL de ácido clorídrico 1N e, em seguida, agitado por 60 minutos e filtrado, utilizando-se papel de filtro de filtragem rápida. Os teores de Na^+ , Ca^{2+} e K^+ foram determinados através de fotometria de chama, enquanto que os teores de P por colorimetria (MALAVOLTA *et al.*, 1997).

Os teores de Cl^- foram determinados segundo o método de Gaines *et al.* (1984). A 3,0 mL do extrato convenientemente diluído, foram adicionados 0,5 mL da mistura de $\text{Hg}(\text{SCN})_2$ a 13,2 mM, em etanol absoluto, e $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ a 20,2%, em água deionizada, na proporção 4:1. Os tubos foram agitados vigorosamente e, após 15 minutos, os teores de Cl^- foram estimados através de leituras de absorvância em 460 nm, utilizando-se NaCl como padrão.

Os teores de nitrogênio foram determinados pelo método semi-micro-Kjeldahl. Foram utilizados 0,1 g do material vegetal moído em tubos de digestão contendo 2 mL de solução digestora (ácido sulfúrico concentrado contendo 1,1 g de mistura catalisadora composta por sulfato de potássio, sulfato de cobre e selênio, na proporção em massa de 100/10/1). Os tubos foram colocados na placa digestora, sendo a temperatura gradativamente elevada até atingir 350°C . Ao final desse processo, os tubos foram transferidos para o microdestilador onde foram adicionados 10 mL de água destilada e 10 mL de NaOH 40% com fenolftaleína. Os tubos foram submetidos a uma microdestilação, sendo o NH_3 liberado da solução contida no tubo e recuperado em um erlenmeyer contendo 5 mL de uma solução de H_2SO_4 a 0,02 N (MALAVOLTA *et al.*, 1997).

3.6.4 Determinação de solutos orgânicos

Para obtenção dos teores de solutos orgânicos (carboidratos, N-aminossolúveis e prolina) amostras dos limbos foliares foram liofilizadas, trituradas e posteriormente utilizadas para determinação dos teores de solutos orgânicos. Os extratos brutos foram preparados de acordo com o método de Cataldo *et al.* (1975). Amostras de 200 mg de massa seca foram homogeneizadas em 10 mL de água desionizada e colocadas em tubos fechados. Os tubos foram levados ao banho-maria a 45 °C, onde foram agitados em intervalos de 15 minutos, durante 1 h. Após esse tempo os tubos foram centrifugados a 3000 x g por 10 min, à temperatura ambiente. O sobrenadante foi filtrado, utilizando-se papel filtro, e armazenado em freezer. As concentrações de carboidratos solúveis, N-aminossolúveis e prolina foram determinadas com base nos métodos desenvolvidos por Dubois *et al.* (1956), Yemm e Cocking (1955) e Bates *et al.* (1973), respectivamente.

3.6.5 Colonização e identificação das estruturas de fungos endofíticos Dark Septate

Após a coleta das raízes, aos 57 dias após o início dos tratamentos salinos, foram coletadas amostras para verificação de colonização de fungos endofíticos Dark Septate nas raízes. Foram selecionadas raízes mais finas e que continham no mínimo 1 cm de comprimento. Posteriormente as raízes foram lavadas em água de torneira utilizando uma peneira. Em seguida, foi procedida metodologia proposta por Koske e Gemma, (1989) para descoloração das raízes.

Para a determinação da frequência de colonização do sistema radicular, foram separados 40 fragmentos radiculares e esses fragmentos foram fixados em lâminas para a observação em microscópio de luz com um aumento de 40 vezes. A determinação da percentagem de colonização pelo fungo endofítico Dark Septate foi realizada pelo método de Giovannetti e Mosse (1980), o qual determina que 40 segmentos de raízes de aproximadamente 1 cm por planta sejam tomados ao acaso e organizados paralelamente em uma lâmina de microscópio quadriculada (1 x 1 cm), com 3 repetições. Nas lâminas, todos os pontos de interseção das raízes com as linhas foram observados sendo considerado positiva quando for observado as estruturas típicas dos fungos endofíticos Dark Septate. O cálculo da percentagem de colonização foi obtida pela média de três repetições, considerando o número de estruturas típicas observadas nos 40 fragmentos de raízes em cada lâmina.

3.7 Análise de dados

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância ao nível de 5% de probabilidade utilizando-se do software “ASSISTAT 7.5 BETA” e a análise de regressão foi realizada para os dados em que ocorreram efeitos significativos (SILVA; AZEVEDO, 2002).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Colonização e identificação das estruturas de fungos endofíticos Dark Septate

Foi observado durante o período de cultivo do feijão-de-corda que todas as plantas apresentaram-se saudáveis, tanto na parte aérea quanto nas raízes. A observação das raízes em microscópio permitiu verificar que os dois isolados testados colonizaram o córtex das raízes do feijão-de-corda formando hifas septadas. Não foi possível a observação de microescleródios.

A taxa de colonização foi influenciada ao nível de 1% de probabilidade tanto pela salinidade da água de irrigação quanto pela inoculação. A interação entre a irrigação com água com diferentes níveis de sais e as diferentes inoculações apresentou influencia ao nível de 1% de probabilidade em relação a taxa de colonização (Tabela 3).

Tabela 3 – Valores sumarizados da análise de variância para a taxa de colonização em plantas de feijão-de-corda cultivadas sob diferentes níveis de salinidade e diferentes inoculações

Fontes de Variação	GL	Quadrado Médio
		Taxa de colonização
Salinidade (A)	3	80,51852**
Fungos (B)	2	16593,36111**
Interação (A X B)	6	142,87**
Resíduo	24	8,58333
CV%	-	6,8

**,* e ^{ns} - significativo a 1% e a 5% de probabilidade e não significativo pelo teste F, respectivamente. CV – coeficiente de variação em porcentagem.

Na Tabela 4, observa-se que com o aumento da concentração de sais na água de irrigação há um aumento na colonização das raízes do feijão-de-corda pelo fungo endofítico Dark Septate. Observa-se que em geral, o isolado F3 apresentou uma maior taxa de colonização, o que não foi observado apenas no tratamento S3, onde a maior taxa de colonização foi observada no tratamento inoculado com o isolado F2. É possível observar que nos tratamentos não inoculados é praticamente ausente a presença das hifas características dos fungos endofíticos Dark Septate (Tabela 4).

Tabela 4 – Taxa de colonização pelo fungo endofítico Dark Septate nas raízes de feijão-de-corda nos diferentes tratamentos avaliados

Tratamentos	Colonização (%)
S1F1	0,67 C
S1F2	53,3 B
S1F3	65,3 A
S2F1	0,33 C
S2F2	52,66 B
S2F3	72,0 A
S3F1	0,67 C
S3F2	74,67 A
S3F3	64,33 B
S4F1	0 C
S4F2	61,33 B
S4F3	72,0 A

Os valores seguidos de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade.

4.2 Biometria

Quanto aos aspectos biométricos, observou-se que a área foliar, a massa seca da parte aérea e a massa seca da raiz foram influenciadas ao nível de 1% de probabilidade pela salinidade da água de irrigação (Tabela 5). Quanto à inoculação, a área foliar e a massa seca da raiz foram influenciadas, ao nível de 1% de probabilidade, enquanto a massa seca da parte aérea foi influenciada ao nível de 5% de probabilidade. Na interação entre a salinidade da água de irrigação e a inoculação, a área foliar foi influenciada ao nível de 1%, enquanto a massa seca da parte aérea e a massa seca das raízes foram influenciadas ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 5).

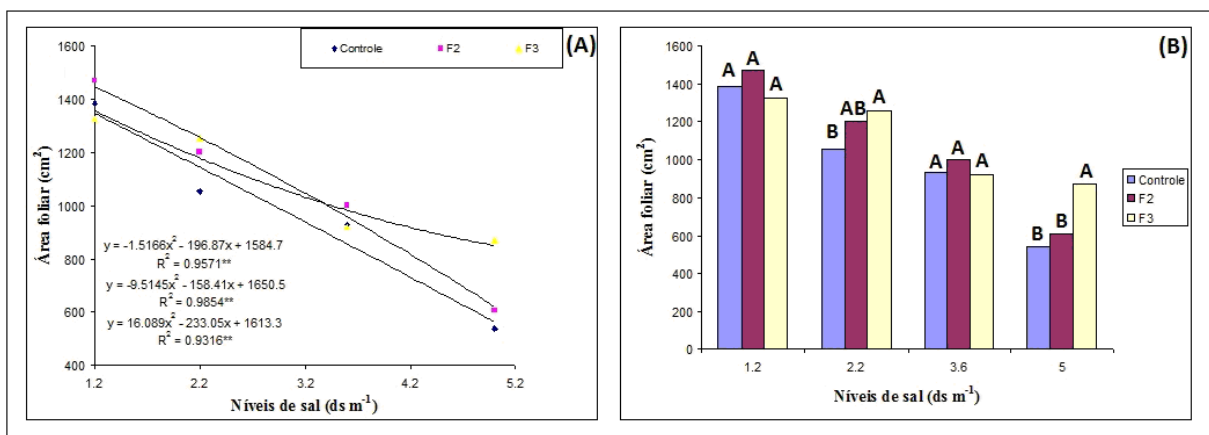
Tabela 5 – Valores sumarizados da análise de variância para área foliar, massa seca da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR), em plantas de feijão-de-corda cultivadas sob diferentes níveis de salinidade e diferentes inoculações

Fontes de Variação	GL	Quadrado Médio		
		Área Foliar	MSPA	MSR
Salinidade (A)	3	2849611,86667**	4858541,42**	1189254,78**
Fungos (B)	2	148290,15833**	72432,70*	353454,15**
Interação (A X B)	6	112424,35833**	58591,38*	40449,86*
Resíduo	108	23101,86852	22511,45	19468,09
CV%	-	14,52	13,48	18,23

** e * - significativo a 1% e a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. CV – coeficiente de variação em porcentagem.

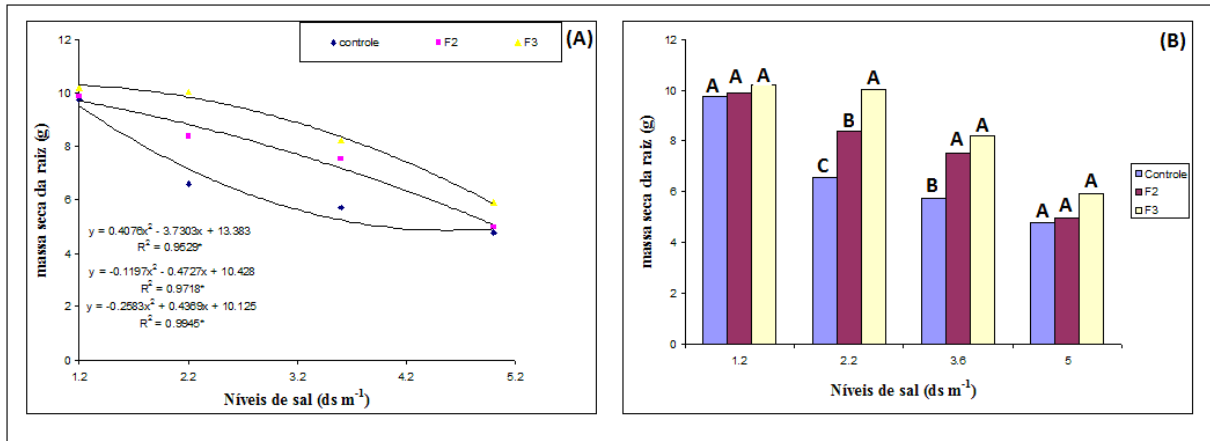
Nas figuras abaixo, observa-se um comportamento polinomial quadrático decrescente da área foliar (Figura 1), da massa seca da raiz (Figura 2) e da massa seca da parte aérea (Figura 3) à medida que aumentou a concentração de sais na água de irrigação. Em geral os tratamentos que foram inoculados apresentaram maiores médias quando comparados com o controle dentro de um mesmo nível de salinidade da água de irrigação, observando-se diferenças significativas para as três variáveis estudadas.

Figura 1 – Área foliar em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações em plantas de feijão-de-corda. Letras distintas indicam diferenças estatísticas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)



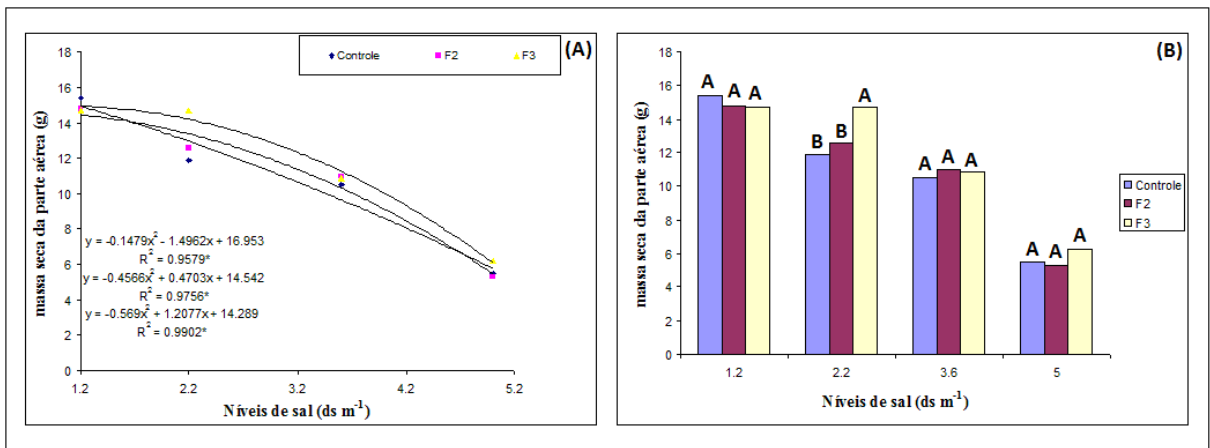
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 2 – Massa seca de raiz em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações em plantas de feijão-de-corda. Letras distintas indicam diferenças estatísticas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 3 – Massa seca da parte aérea em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações em plantas de feijão-de-corda. Letras distintas indicam diferenças estatísticas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).



Fonte: Elaborada pelo autor.

Em termos médios o aumento do nível de salinidade de 1,2 para 5,0 dS m^{-1} provocou uma redução de 61,09%, 56,22% e 37,18% na área foliar do controle, F2 e F3, respectivamente, enquanto o aumento do nível de salinidade de 1,2 para 2,2 dS m^{-1} provocou uma redução da área foliar de 23,86%, 12,6% e 9,51% no controle, F2 e F3, respectivamente, podendo ser observado que a CEa de 2,2 dS m^{-1} não influenciou a área foliar para as plantas inoculadas com os endófitos F3. Os efeitos da salinidade foram maiores quando se aplicou água com salinidade de 5,0 dS m^{-1} tanto para o tratamento controle quanto para os tratamentos

inoculados, mas se observando diferença significativa entre as plantas inoculadas com o F3 quando comparada com os tratamentos controle e inoculado com o F2.

O incremento da salinidade da água de irrigação resultou em decréscimo da massa seca da parte aérea do feijão-de-corda, o aumento da CEa de 1,2 para 5,0 dS m⁻¹ provocou respectivamente uma redução de 64,27%, 65,75% e 59,51% da massa seca da parte aérea nos tratamentos controle, F2 e F3, enquanto o aumento do nível de salinidade de 1,2 dS m⁻¹ para 2,2 dS m⁻¹ provocou uma redução da massa seca de 22,69%, 17,11% e 4,60%, respectivamente no controle, F2 e F3.

Para a massa seca das raízes, em geral, o incremento da salinidade da água de irrigação provocou reduções na massa seca. Com exceção para as plantas que foram inoculadas com o tratamento F3 e irrigadas com água com CE de 2,2 dS m⁻¹; nesse tratamento as plantas apresentaram um aumento de 2,84% na massa seca das raízes quando comparadas com o controle. Nos tratamentos que receberam irrigação com água com CE de 1,2 dS m⁻¹ foram observados os maiores resultados de massa seca e nos tratamentos que receberam irrigação com água com CE de 5,0 dS m⁻¹, maior salinidade, foram observados os menores valores de massa seca. As plantas irrigadas com água de CE de 5,0 dS m⁻¹ tiveram reduções na massa seca de 51,06%, 49,09% e 39,43%, respectivamente, no tratamento não inoculado, F2 e F3.

Esses resultados são semelhantes aos obtidos por vários pesquisadores estudando o efeito da salinidade da água de irrigação no crescimento de diferentes espécies, como a cultura do milho de pipoca (OLIVEIRA *et al.*, 2009), sorgo (AQUINO *et al.*, 2007), algodão (QUEIROZ; BULL, 2001), mamona (SILVA *et al.*, 2008), feijão-de-corda (ASSIS JÚNIOR *et al.*, 2007; DANTAS *et al.*, 2002; SOUSA *et al.*, 2007) onde o aumento da salinidade da água de irrigação ocasionou reduções nos parâmetros de crescimento avaliados.

A redução no crescimento foliar representa um mecanismo de defesa das plantas sob condições de estresse salino, reduzindo as perdas de água por transpiração (TAIZ; ZEIGER, 2010). Entretanto, também representa alterações na partição de fotoassimilados e redução na área destinada ao processo fotossintético, o que pode resultar em perdas de produtividade. A restrição no uso da água, pela diminuição da condutividade hidráulica, associada ao aumento da resistência estomática, contribui, em geral, para a diminuição na energia livre da água nos tecidos, provocando distúrbios metabólicos que irão afetar o crescimento (KRAMER, 1983).

Segundo Prisco e Gomes Filho (2010) pode-se afirmar que a salinidade inicialmente altera a absorção de água, nutrientes e a permeabilidade das membranas, causando desequilíbrio no balanço hídrico e nutricional da planta. Todas essas mudanças comprometem a expansão e divisão celular, afetando o crescimento vegetativo e reprodutivo e acelerando a senescência das folhas.

Em relação à inoculação foi observado que as plantas inoculadas com os isolados fungicos foram significativamente mais tolerantes aos efeitos negativos da salinidade que as plantas controle até uma salinidade de 2,2 dS m⁻¹. Esses resultados são semelhantes aos observados por Khan *et al.*, (2012) onde plantas de pepino inoculadas com microrganismos endofíticos também apresentaram valores biométricos superiores quando comparadas com plantas não inoculadas em condições de estresse salino. Eles apontam esse maior crescimento à capacidade desses fungos endofíticos de produzir ácido indolacético – AIA e giberelina. Redman *et al.*, (2011) relataram que o AIA produzido por fungos endofíticos pode melhorar o crescimento de plantas de arroz sob salinidade, seca e estresse térmico. Em outra pesquisa, Khan *et al.*, (2011) confirmou que *P. funiculosum* e *Aspergillus fumigatus* podem produzir giberelina e melhorar o crescimento de plantas de soja sob moderado e alto estresse salino. Para Plenchette e Duponnis (2005) a estimulação do crescimento pode ser atribuída principalmente pela melhoria da nutrição fosfatada. Segundo Malinowski e Belesky (1999) em seus estudos, plantas infectadas por endófitos apresentaram uma eficiência do uso do fósforo 16% superior a plantas não inoculadas. Barrow e Osuna (2002) concluíram em suas pesquisas que o Dark Septate é eficiente em tornar o fósforo antes inacessível, disponível para a planta.

4.3 Trocas gasosas

Aos 20 dias após o plantio (DAP), antes de iniciar a irrigação com água salina, foi feita uma leitura de trocas gasosas para a determinação dos valores das taxas fotossintética, condutância estomática e transpiração, para saber se as plantas estavam uniformes e se a presença do fungo já teria causado alguma alteração nessas características. No final do experimento, aos 57 DAP, foi feita outra leitura das trocas gasosas para determinar o efeito da salinidade e das inoculações sobre essas características.

Na análise de variância para as trocas gasosas, observa-se que a taxa fotossintética (A), a condutância estomática (gs) e a transpiração (E), determinadas aos 20 DAP não foram

influenciadas pela salinidade da água de irrigação e nem pela inoculação. Já aos 57 DAP a taxa fotossintética e a condutância estomática foram afetadas a um nível de 1% de probabilidade pela salinidade da água de irrigação e pela presença do fungo. A transpiração foi influenciada a um nível de 1% pela salinidade e não foi influenciada pela presença do fungo. Na interação entre os fatores, a taxa fotossintética foi influenciada a um nível de 1% de probabilidade, a condutância estomática foi influenciada a um nível de 5% e a transpiração não foi influenciada (Tabela 6).

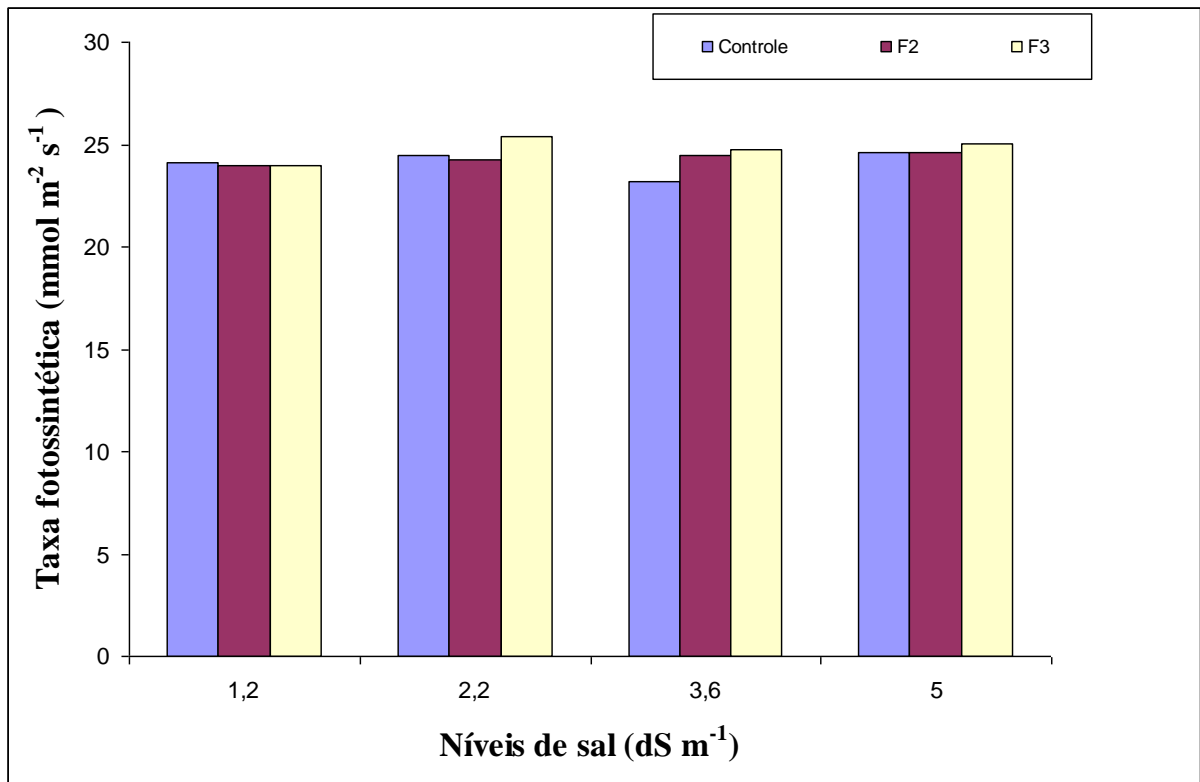
Tabela 6 – Valores sumarizados da análise de variância para fotossíntese (A), condutância estomática (gs) e transpiração (E), determinada aos 20 (1) e 57 (2) dias após o plantio, em plantas de feijão-de-corda cultivadas sob diferentes níveis de salinidade e inoculações

Fontes de Variação	GL	Quadrado Médio					
		A (1)	A (2)	gs (1)	gs (2)	E (1)	E (2)
Salinidade (A)	3	1,266 ^{ns}	25,838**	0,043 ^{ns}	0,140**	3,448 ^{ns}	27,337**
Fungos (B)	2	1,530 ^{ns}	13,364**	0,0005 ^{ns}	0,021**	0,415 ^{ns}	1,894 ^{ns}
Interação (A X B)	6	0,646 ^{ns}	10,813**	0,035 ^{ns}	0,011**	0,319 ^{ns}	1,743 ^{ns}
Resíduo	24	1,450	1,519	0,018	0,003	1,210	2,413
CV%	-	4,93	10,00	18,56	20,94	10,40	31,77

**,* e ^{ns} - significativo a 1% e a 5% de probabilidade e não significativo pelo teste F, respectivamente. CV – coeficiente de variação em porcentagem.

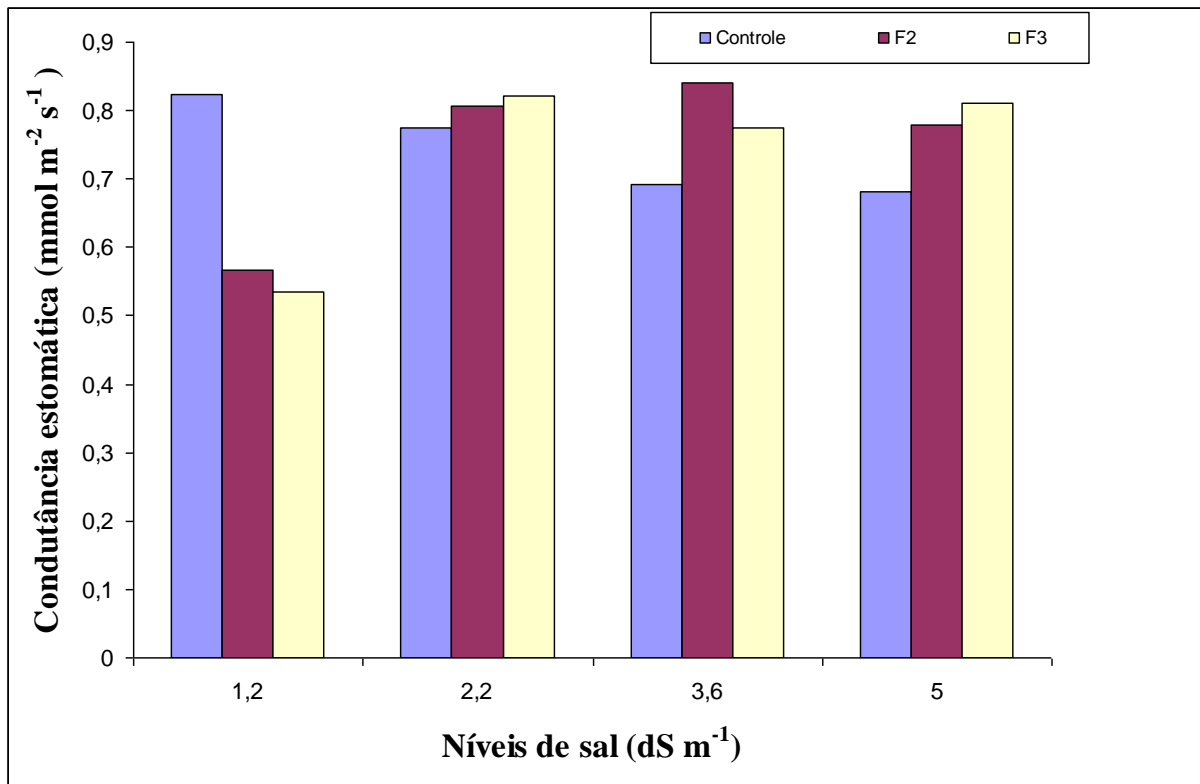
Nas Figuras seguintes, observa-se que antes da aplicação da água com salinidades diferentes a taxa fotossintética (Figura 4), a condutância estomática (Figura 5) e a transpiração (Figura 6) estavam uniformes independentemente da inoculação.

Figura 4 – Taxa fotossintética do feijão-de-corda aos 20 dias após o plantio em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações



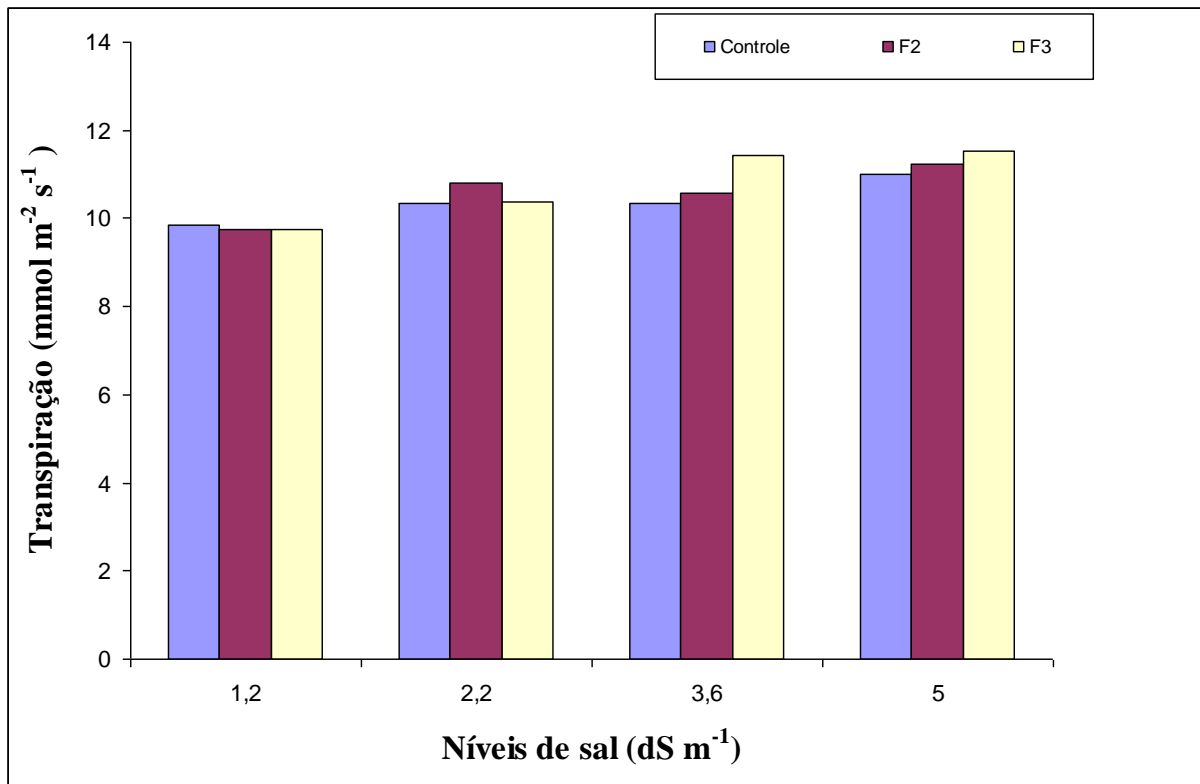
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 5 – Condutância estomática do feijão-de-corda aos 20 dias após o plantio em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações



Fonte: Elaborada pelo autor.

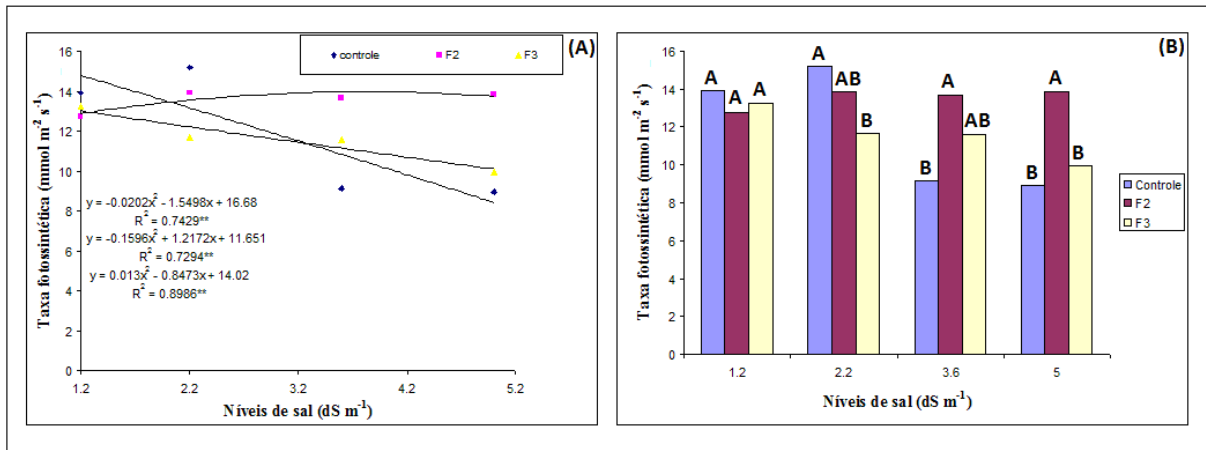
Figura 6 – Transpiração do feijão-de-corda aos 20 dias após o plantio em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações



Fonte: Elaborada pelo autor.

Na Figura 7, observa-se em geral que ao final do experimento houve comportamento polinomial quadrático decrescente à medida que aumentou a salinidade da água de irrigação.

Figura 7 – Taxa fotossintética do feijão-de-corda aos 57 dias após o plantio em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações. Letras distintas indicam diferenças estatísticas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).



Fonte: Elaborada pelo autor.

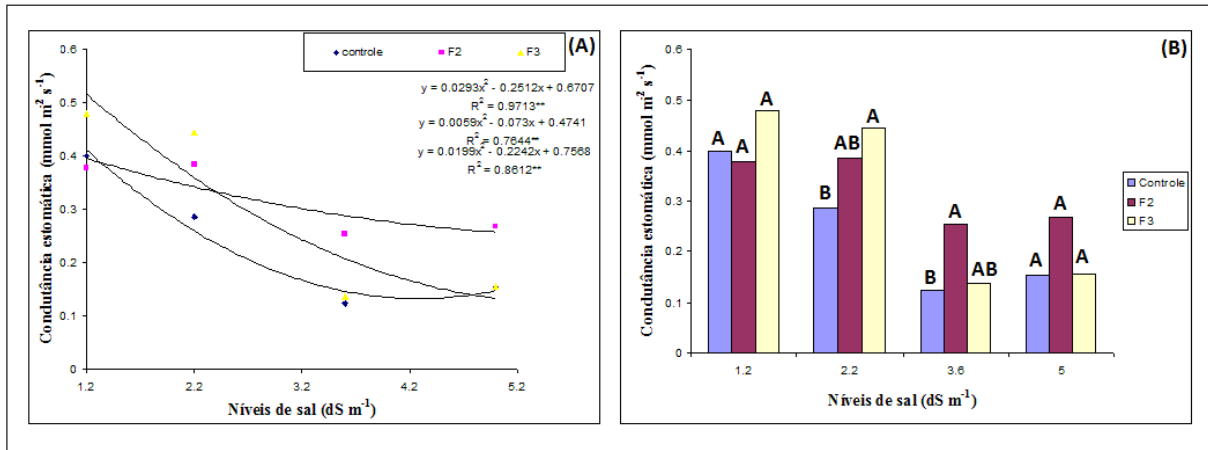
Considerando a média dos tratamentos, verificou-se que o aumento da salinidade da água de irrigação nos tratamentos controle e F3, houve um decréscimo nos valores de fotossíntese (Figura 7A). No tratamento F2, com o aumento da salinidade os valores da fotossíntese permaneceram sem variações significantes estatisticamente. Mas essa manutenção da fotossíntese não garantiu a promoção de crescimento com o aumento da salinidade, sendo observado que com o aumento da salinidade os valores de matéria seca tanto da parte aérea como das raízes foram reduzidos (Figuras 2 e 3).

Em termos médios, o aumento da salinidade da água de irrigação de 1,2 dS m⁻¹ para 5,0 dS m⁻¹ provocou uma redução na taxa fotossintética de 35,70%, 0,57% e 28,37%, respectivamente nos tratamentos controle, F2 e F3. O aumento da CE da água de irrigação de 1,2 dS m⁻¹ para 2,2 dS m⁻¹ não provocou alterações significantes para nenhum dos tratamentos. Essas alterações só foram observadas a partir da salinidade de 3,6 dS m⁻¹, onde o tratamento controle apresentou médias menores quando comparado com os tratamentos inoculados, mostrando que a presença do fungo trouxe melhorias na taxa fotossintética para as plantas de feijão-de-corda.

Para a condutância estomática aos 57 dias após o plantio, em relação ao tratamento F2, o aumento da salinidade da água de irrigação não provocou alterações significantes. Para os outros tratamentos o aumento da salinidade provocou reduções significantes a partir da CE da água de 3,6 dS m⁻¹. O aumento da salinidade de 1,2 dS m⁻¹

para $5,0 \text{ dS m}^{-1}$ provocou redução na condutância estomática de 61,31%, 32,83% e 61,14% nos tratamentos controle, F2 e F3, respectivamente (Figura 8).

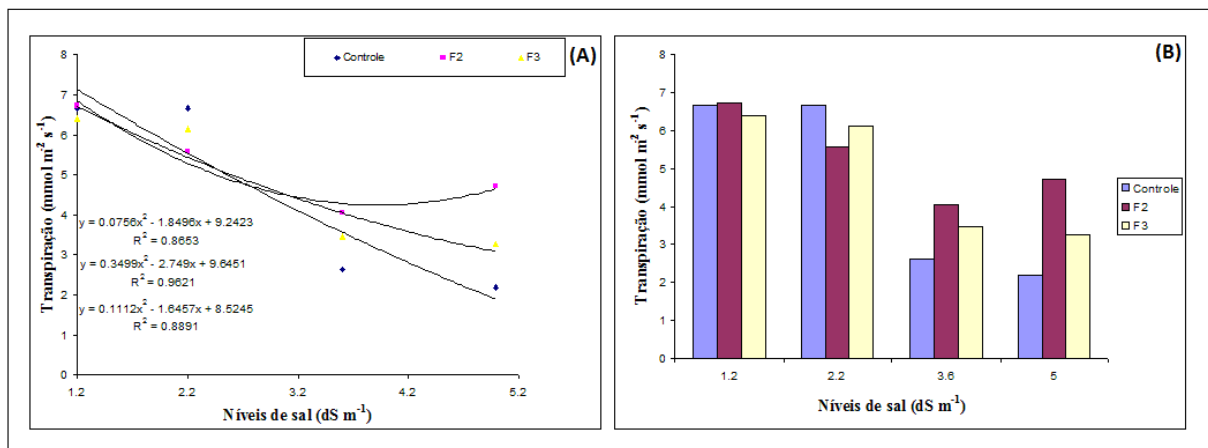
Figura 8 – Condutância estomática do feijão-de-corda aos 57 dias após o plantio em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações. Letras distintas indicam diferenças estatísticas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).



Fonte: Elaborada pelo autor.

A transpiração observada aos 57 dias após o plantio foi influenciada apenas pela salinidade. Foi observado que com o aumento da salinidade da água de irrigação houve decréscimo nos valores de transpiração na planta de feijão-de-corda (Figura 9).

Figura 9 – Transpiração do feijão-de-corda aos 57 dias após o plantio em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Assis Júnior *et al.* (2007) observaram que plantas de feijão aos 50 dias após o plantio não apresentaram diferenças significativas em relação a transpiração das plantas irrigadas com água salina comparadas com as plantas que receberam irrigação de água do poço. Neste mesmo trabalho foi verificado pelos autores que a salinidade influenciou negativamente a fotossíntese e a condutância estomática

Diversos autores observaram reduções na fotossíntese e demais parâmetros relacionados às trocas gasosas com o aumento da salinidade da água de irrigação (SILVA *et al.*, 2003; PARIDA; BANDHU, 2005; PIZARRO, 2006). A redução na fotossíntese pode ser atribuída aos efeitos osmóticos dos sais acumulados no solo e ao acúmulo de sódio e/ou cloreto nos cloroplastos decorrentes da alta concentração destes íons nos tecidos das plantas (AZEVEDO NETO *et al.*, 2004). De acordo com Taiz e Zeiger (2010), se os efeitos osmóticos e íon-específicos decorrentes da absorção de sais excedem o nível de tolerância da planta a fotossíntese é limitada, não somente devido ao fechamento estomático, mas, também, pelo efeito do sal sobre as atividades dos cloroplastos. Parida e Bandhu (2005) relataram que sob altas concentrações salinas a eficiência fotossintética de diversas culturas são afetadas de forma significativa. Com o aumento da concentração de sais na solução do solo, o potencial hídrico torna-se progressivamente mais baixo, pois o componente osmótico soma-se algebricamente ao matricial e, dessa forma, a água torna-se menos disponível às plantas que, como auto defesa, fecham seus estômatos na tentativa de manter a turgescência (SULTANA *et al.*, 1999).

Plantas inoculadas com endofíticos podem ter uma melhor taxa fotossintética devido a uma melhor nutrição proporcionada por esses fungos (KASCHUK *et al.*, 2009).

Sob estresse salino, fitormônios como o ácido abscísico (ABA) pode proteger as plantas pelo fechamento dos estômatos para diminuir a perda de água e os danos causados pelo estresse (ZHANG *et al.*, 2006). Sabe-se que com o estresse salino há um aumento no conteúdo de ABA nas plantas (MIZRAHI *et al.*, 1970). No entanto, Khan *et al.* (2012) observaram que plantas inoculadas com fungos endofíticos apresentaram menores concentrações de ABA e maiores concentrações de giberelina quando comparadas a plantas não inoculadas sob estresse salino. Esses resultados também foram observados por Jahromi *et al.* (2008), testando inoculação de endofíticos em alface. Segundo Shinozaki e Yamaguchi-Shinozaki. (1997), plantas com níveis mais elevados de giberelina são menos suscetíveis a estresse do que plantas com níveis mais baixos desse fitormônio.

4.4 Teores foliares de Ca^{2+} , K^+ , P, N, Cl^- e Na^+

Os teores de Ca^{2+} , K^+ , P, N, Cl^- e Na^+ em folhas de feijão foram influenciados pela salinidade da água de irrigação ao nível de probabilidade de 1%. Em relação à presença do fungo na planta, apenas os teores de P e N apresentaram diferenças significativas. A interação entre os fatores influenciou significativamente a 1% de probabilidade o P e N (Tabela 7).

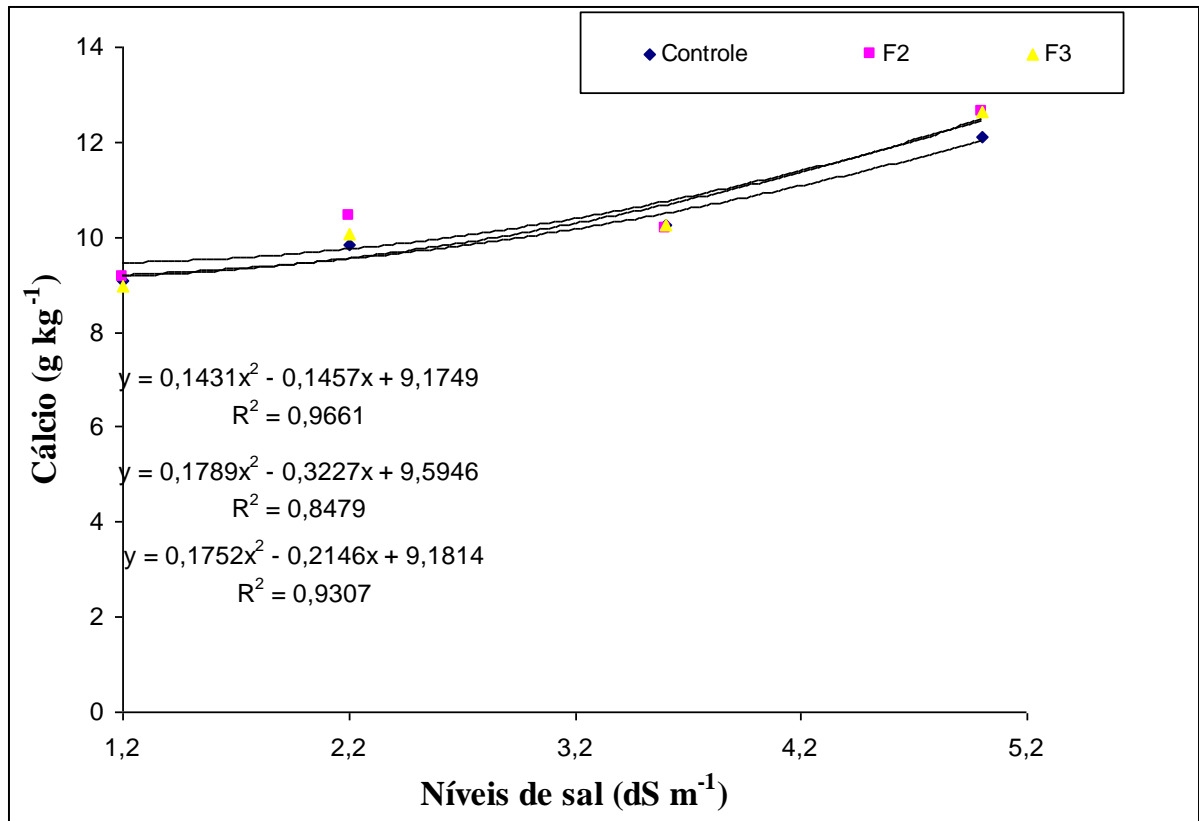
Tabela 7 – Valores sumarizados da análise de variância para os teores foliares de Ca^{2+} , K^+ , P, N, Cl^- e Na^+ , em plantas de feijão-de-corda cultivadas sob diferentes níveis de salinidade e inoculações

Fontes de Variação	GL	Quadrado Médio					
		Ca^{2+}	K^+	P	N	Cl^-	Na^+
Salinidade (A)	3	30,42**	77,48**	2,26**	251,22**	26721,18**	3,50**
Fungos (B)	2	0,40 ^{ns}	1,55 ^{ns}	7,81**	40,90**	24,77 ^{ns}	0,01 ^{ns}
Interação (A X B)	6	0,20 ^{ns}	5,07 ^{ns}	1,01**	4,33**	6,74 ^{ns}	0,01 ^{ns}
Resíduo	48	0,50	3,87	0,20	0,87	70,12	0,04
CV%	-	6,77	9,17	9,26	5,13	7,92	17,87

** e ^{ns} - significativo a 1% de probabilidade e não significativo pelo teste F, respectivamente. CV – coeficiente de variação em porcentagem.

Observam-se um aumento do teor de cálcio nas folhas com o aumento da salinidade da água de irrigação (Figura 10). Aumentos da concentração de cálcio na folha com o aumento da salinidade da água de irrigação também foi observado por outros autores (SILVA *et al.*, 2011; SOUSA *et al.*, 2007). Um aumento da CE da água de irrigação de 1,2 dS m^{-1} para 5,0 dS m^{-1} provocou um aumento no teor de cálcio na folha da planta de 33,2%, 39,2% e 38,98% nos tratamentos controle, F2 e F3, respectivamente. Pode-se atribuir o aumento do teor de cálcio nas folhas pela alta concentração de cálcio na água de irrigação (Figura 10).

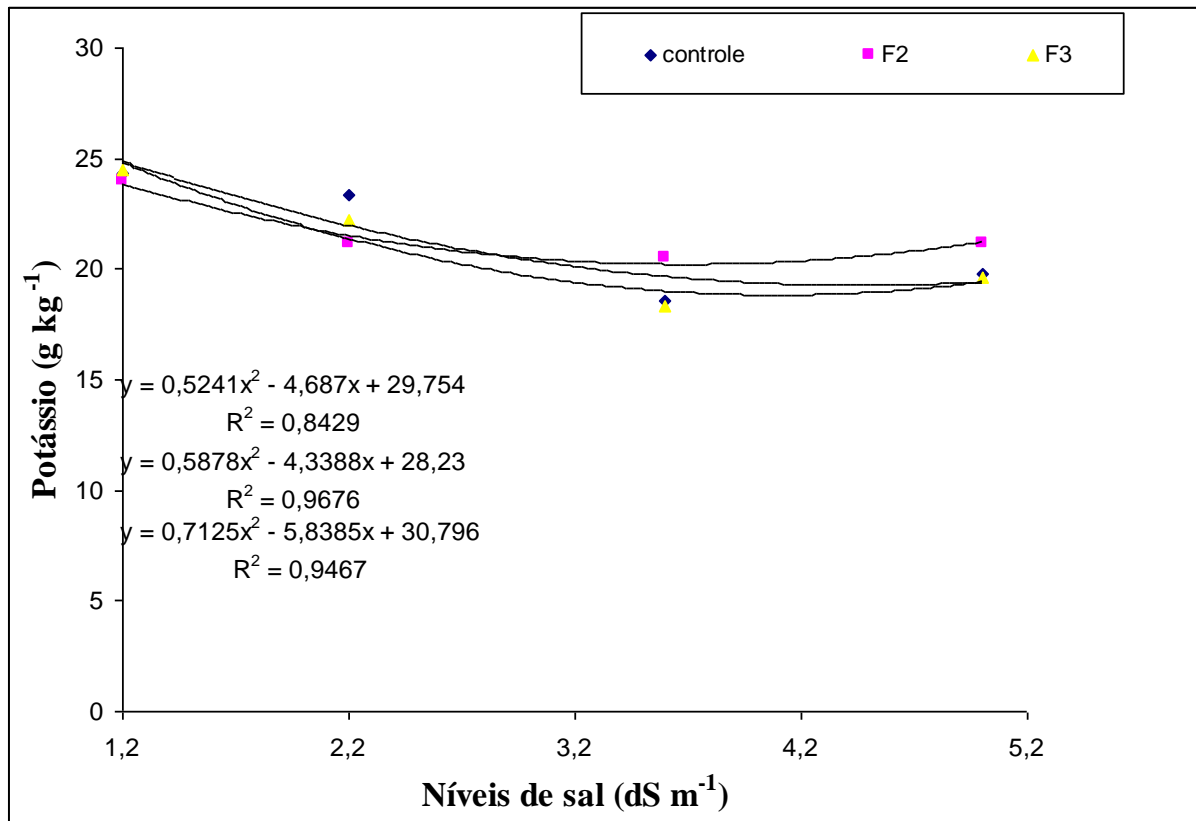
Figura 10 – Teores de cálcio em folhas de feijão-de-corda em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações



Fonte: Elaborada pelo autor.

Em relação ao teor de potássio nas folhas, observa-se que com o aumento da salinidade da água de irrigação há uma diminuição no teor de potássio nas folhas do feijão-de-corda (Figura 11).

Figura 11 – Teores de Potássio em folhas de feijão-de-corda em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações

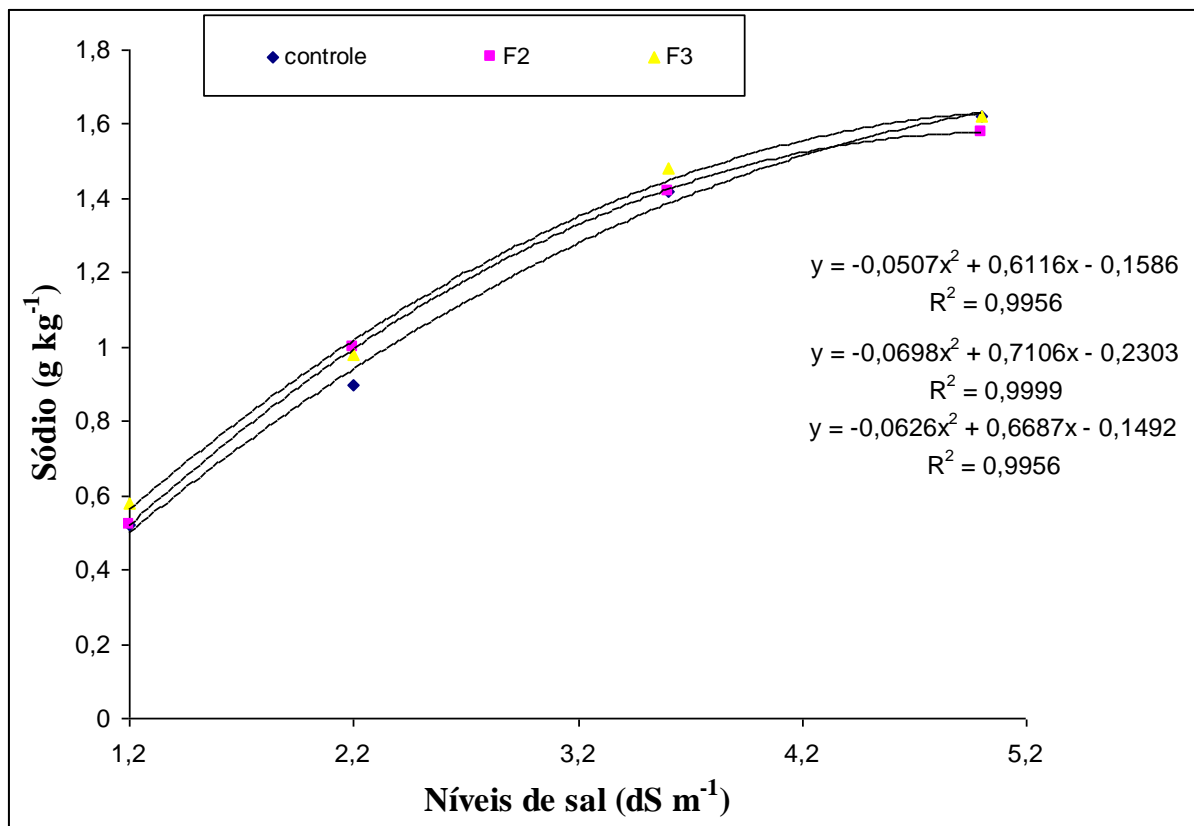


Fonte: Elaborada pelo autor.

Esse mesmo comportamento foi observado por Sousa (2006) avaliando os efeitos da salinidade no feijão-de-corda e por Farias *et al.* (2009) na gliricídia. O potássio tem importante função na regulação do potencial osmótico das células vegetais, além de ativar muitas enzimas envolvidas na respiração e na fotossíntese (TAIZ; ZEIGER, 2010).

Já o teor de sódio aumenta com o aumento da salinidade, independente da inoculação. O aumento da salinidade da água de irrigação de 1,2 dS m⁻¹ para 5,0 dS m⁻¹ provocou um aumento de mais de 200% na concentração de sódio nas folhas do feijão-de-corda (Figura 12).

Figura 12 – Teores de sódio em folhas de feijão-de-corda em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações



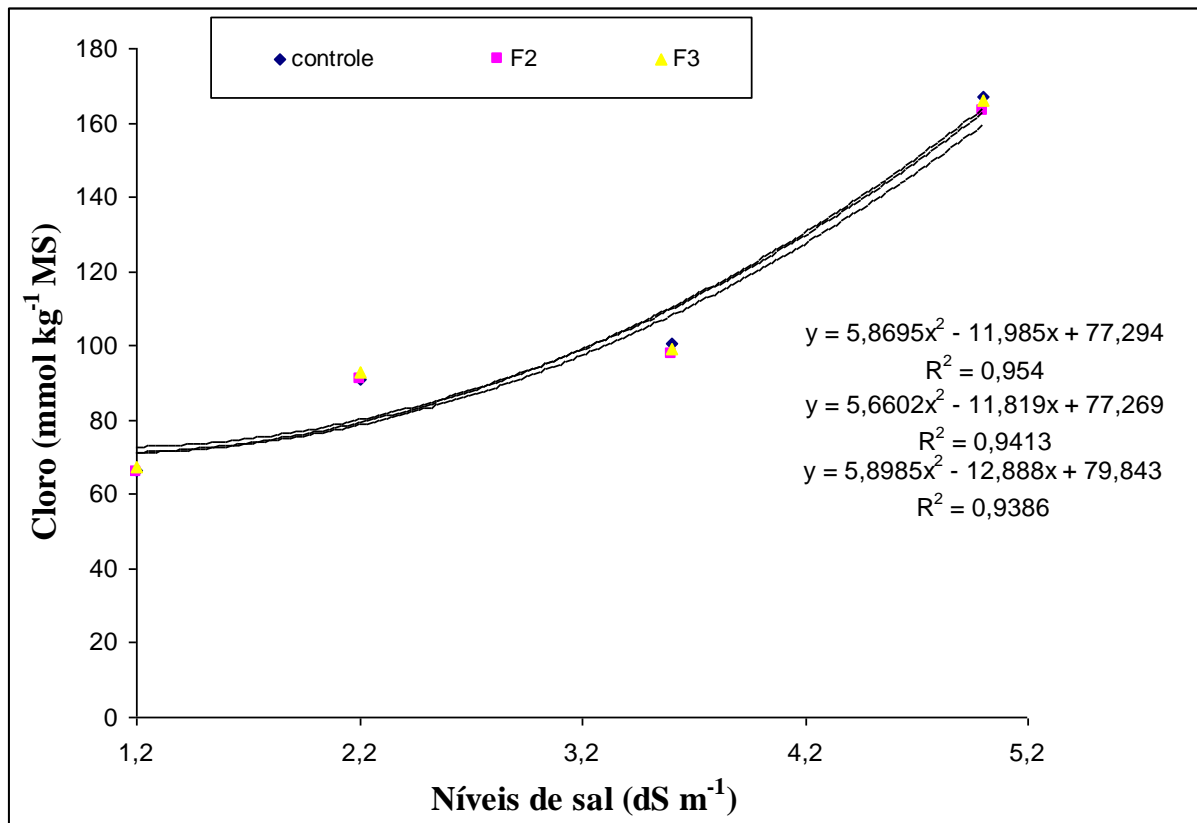
Fonte: Elaborada pelo autor.

O aumento da concentração de sódio no meio radicular, ocasionado pela água de irrigação salina, pode inibir a absorção de potássio, devido a relação competitiva entre esses cátions monovalentes (KAWASAKI *et al.*, 1983). O acúmulo de sódio no ambiente radicular, em função da salinidade, provoca diminuição nos teores foliares de K^+ (CACHORRO *et al.*, 1994; AZEVEDO NETO *et al.*, 2004; PIZARRO, 2006), que devem, em grande parte, a menor absorção de K^+ , causada pela competição dos íons Na^+ pelos mesmos sítios do sistema de absorção na membrana plasmática das células radiculares (IAGURTA *et al.*, 1995). Um dos principais efeitos negativos do excesso de sódio, principalmente nas folhas, é a inibição do crescimento (AZEVEDO NETO; TABOSA, 2000; FERREIRA *et al.*, 2005), em função de sua ação tóxica sobre o metabolismo celular (MUNNS, 2002).

Em relação ao teor de cloreto na folha do feijão-de-corda submetido a diferentes níveis de salinidade da água de irrigação, foi observado que com o aumento da salinidade houve um aumento no teor de cloreto na folha. O aumento da salinidade de $1,2 \text{ dS m}^{-1}$ para $2,2 \text{ dS m}^{-1}$ já apresentou aumentos significativos e o aumento da salinidade da água de $1,2 \text{ dS}$

m^{-1} para $5,0 \text{ dS m}^{-1}$ provocou um aumento de mais de 140% do teor de cloreto, independentemente do tratamento de inoculação (Figura 13).

Figura 13 – Teores de cloreto em folhas de feijão-de-corda em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações

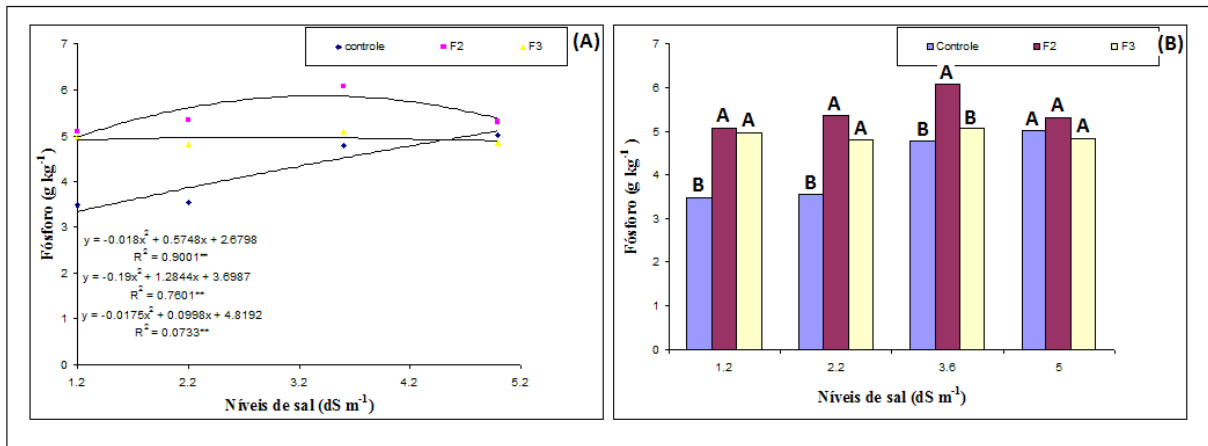


Fonte: Elaborada pelo autor.

Esses resultados são semelhantes aos da maioria dos trabalhos relacionados a salinidade, que mostram aumentos nos teores de sódio e cloreto e decréscimo nos teores de potássio com o aumento da salinidade da água de irrigação (MUNNS, 2002; TESTER; DAVENPORT, 2003; COSTA *et al.*, 2003; CRUZ *et al.*, 2006).

Os teores de fósforo na folha do feijão-de-corda aumentaram com o incremento da salinidade da água de irrigação e, em geral, os teores foram maiores nas plantas inoculadas. Foi observado que nos tratamentos irrigados com a água de menor salinidade os tratamentos inoculados apresentaram valores superiores, mostrando a eficiência do fungo em absorver o fósforo no solo. Os tratamentos irrigados com água de CE $1,2 \text{ dS m}^{-1}$ apresentaram o teor de fósforo 45% e 43%, nos tratamentos F2 e F3, superior ao tratamento controle. Os maiores valores foram observados nos tratamentos com salinidade de $3,6 \text{ dS m}^{-1}$ (Figura 14).

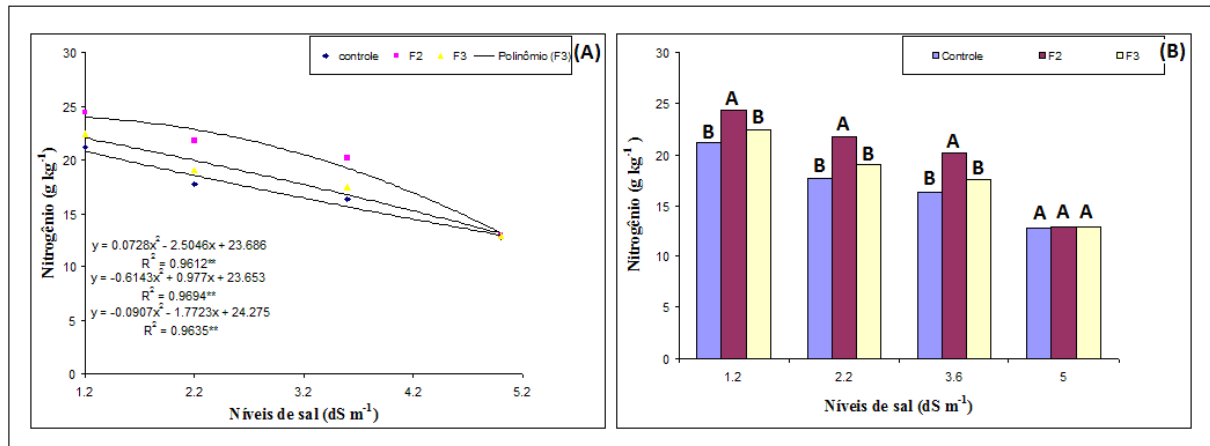
Figura 14 – Teores de Fósforo em folhas de feijão-de-corda em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações. Letras distintas indicam diferenças estatísticas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).



Fonte: Elaborada pelo autor.

Em relação ao nitrogênio, com o aumento da salinidade da água de irrigação houve uma redução do teor deste nutriente nas folhas do feijão-de-corda, mas foi observado influencia significativa na interação entre a salinidade e a presença dos fungos nas plantas, onde as plantas inoculadas com F2, em geral, apresentaram maiores médias quando comparadas com as outras inoculações. Assim como foi observado com o teor de fósforo, no tratamento com água de CE 1,2 dS m⁻¹ as plantas inoculadas apresentaram maiores teores de nitrogênio na folha (Figura 15).

Figura 15 – Teores de Nitrogênio em folhas de feijão-de-corda em função da salinidade da água de irrigação e diferentes inoculações. Letras distintas indicam diferenças estatísticas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).



Fonte: Elaborada pelo autor.

O menor teor de nutrientes em plantas influenciadas pelo estresse salino se deve principalmente aos efeitos osmóticos e tóxicos do excesso de sais na zona radicular (LACERDA, 2005). O excesso de cloreto (Figura 13) provoca uma diminuição do nitrato devido à competição direta entre esses íons pelo mesmo transportador (ARAGÃO *et al.*, 2010)

Fungos endofíticos Dark Septate são capazes de estabelecer associações mutualísticas com a planta hospedeira, assim como fazem os fungos micorrízicos, atuando na promoção do crescimento vegetal, facilitando a absorção de nutrientes como o nitrogênio e o fósforo (SCERVINO *et al.*, 2009; CHEN *et al.*, 2010). Esses maiores teores de fósforo e nitrogênio nas folhas do feijão-de-corda inoculado (Figura 15) podem ser devido a habilidade do fungo de produzir hifas extra radiculares que exploram regiões do solo que as raízes não conseguem alcançar, possibilitando uma maior absorção dos nutrientes necessários para o crescimento da planta (RIBEIRO, 2011). Fungos endofíticos Dark Septate são capazes de hidrolisar o fósforo indisponível para a planta, tornando-o disponível (BARROW; OSUNA, 2002).

4.5 Acúmulo de solutos orgânicos nas folhas

Na análise de variância para o acúmulo de solutos orgânicos nas folhas do feijão-de-corda, observam-se que os teores de carboidratos, N-aminossolúveis e prolina não foram influenciados estatisticamente pela salinidade da água de irrigação ou pelas inoculações. A interação entre os fatores não influenciou estatisticamente nenhuma das variáveis avaliadas (Tabela 8).

Tabela 8 – Valores sumarizados da análise de variância para o acúmulos foliares de solutos orgânicos em plantas de feijão-de-corda cultivadas sob diferentes níveis de salinidade e inoculações

Fontes de Variação	GL	Quadrado Médio		
		Carboidratos	N-aminossolúveis	Prolina
Salinidade (A)	3	0,06044 ^{ns}	5428,6999 ^{ns}	3,37809 ^{ns}
Fungos (B)	2	0,11018 ^{ns}	750,46303 ^{ns}	16,18591 ^{ns}
Interação (A X B)	6	0,05857 ^{ns}	1251,34081 ^{ns}	21,02908 ^{ns}
Resíduo	48	0,09985	3062,31249	9,27438
CV%	-	17,30	60,57	34,23

**,* e ^{ns} - significativo a 1% e a 5% de probabilidade e não significativo pelo teste F, respectivamente. CV – coeficiente de variação em porcentagem.

O aumento da salinidade da água de irrigação não provocou alterações na concentração de N-aminossolúveis e prolina nas folhas de feijão-de-corda. A função benéfica do acúmulo de prolina em função do estresse salino ainda é bastante controversa. Enquanto alguns trabalhos mostram um acúmulo deste soluto em folhas de feijão-de-corda com o aumento do estresse salino (PRAXEDES *et al.*, 2009; BROETTO *et al.*, 1995), outros estudos (SOUSA, 2007; SOUSA, 2006; COSTA *et al.*, 2003) mostram que com o aumento da salinidade o teor de prolina não sofre influência.

O teor de carboidratos solúveis não foi influenciado pelo aumento do estresse salino na planta de feijão-de-corda, resultado semelhante ao observado por Costa *et al.* (2003), onde os autores sugerem que esses osmólitos não contribuem para o ajustamento osmótico das plantas. Sousa (2006) observou que a salinidade influenciou significativamente o teor de carboidratos nas folhas de feijão-de-corda, mas destacou que não houve uma grande discrepância entre o nível de maior salinidade e o de menor.

5 CONCLUSÕES

1. O aumento da salinidade da água de irrigação provocou reduções significativas na biomassa, área foliar e trocas gasosas do feijão-de-corda, contudo, a presença do fungo endofítico Dark Septate provocou uma maior tolerância das plantas aos efeitos negativos provocado pelo estresse salino.
2. A salinidade provocou um maior acúmulo de cálcio, sódio, cloro e fósforo e diminuiu os teores potássio e nitrogênio das folhas do feijão-de-corda.
3. A presença do fungo endofítico Dark Septate proporcionou as plantas maior teor de fósforo e nitrogênio quando comparadas com as plantas que não foram inoculadas.
4. A salinidade e a presença do fungo não apresentaram influência sobre os teores de solutos orgânicos nas folhas de feijão-de-corda.

REFERÊNCIAS

- AQUINO, A. J. S.; et al. Crescimento, partição de matéria seca e retenção de Na⁺, K⁺ e Cl⁻ em dois genótipos de sorgo irrigados com águas salinas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, n. 31, p.961-971, 2007.
- AQUINO, A. M.; ASSIS, R. L., (Eds.). Processos biológicos do sistema solo-planta. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p. 181-200, 2005.
- ARAGÃO, R. M. et al. Absorção, fluxo no xilema e assimilação do nitrato no feijão-caupi submetido à salinidade. *Revista Ciencia Agronômica*, v.41, p.100-106, 2010.
- ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. Roles of glycinebetaine and proline in improving plant abiotic stress tolerance. **Environ. Exp. Bot.**, v. 59, p.206-216, 2007.
- ASSIS JUNIOR, J. O. et al. Produtividade do feijão-de-corda e acúmulo de sais no solo em função da fração de lixiviação e da salinidade da água de irrigação. **Revista Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 27, n. 3, p.702-713, set./dez. 2007.
- AYERS, R. S., WESTCOT, D. W. A qualidade da água na agricultura. Campina Grande. UFPB, 153p, 1999.
- AZEVEDO NETO, A. D. et al. Effects salt stress on plant growth, stomatal response and solute accumulation of different maize genotypes. **Brazilian Journal Plant Physiology**. Piracicaba, v.16, n.1, p.31-38, 2004.
- AZEVEDO NETO A. D.; TABOSA J. N. Estresse salino em plântulas de milho: Parte II - Distribuição dos macronutrientes catiônicos e suas relações com o sódio. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.4, n.2, p.165-171, 2000.
- BARROW, J. R.; AALTONEN, R. E. Evaluation of the internal colonization of atriplex canescens (Pursh) Nutt. Roots by dark septate fungi and the influence of host physiological activity. **Mycorrhiza**, v.11. p.199-205, 2001.
- BARROW, J. R. Atypical morphology of dark septate fungal root endophytes of Bouteloua in arid southwestern USA rangelands. **Mycorrhiza**, v.13, p.239-247, 2003.
- BARROW, J. R.; OSUNA, P. Phosphorus solubilization and uptake by dark septate fungi in fourwing saltbush, Atriplex canescens (Pursh) Nutt. **Journal of arid environments**, p.449-459. 2002.
- BATES, L. S. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant and soil**, p.205-208, 1973.
- BROETTO, F. et al. Tolerância à salinidade em feijão. **Sci. Agrícola**, p.164-166, 1995.
- CACHORRO, P. et al. Implications of calcium nutrition on the response of Phaseolus vulgaris L. to salinity. *Plant and Soil*, Dordrecht, v. 159, n. 2, p. 205-212, Jan. 1994.

- CARDOSO, M. J., RIBEIRO, V. Q., Desempenho agrônômico do feijão-caupi, cv. Rouxinol, em função de espaçamento entre linhas e densidade de plantas sob regime de sequeiro. **Revista Ciência Agronômica**, v.37, p.102-105, 2006.
- CATALDO, D. A. et al. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Communications in soil science and plant analysis**, p.71-80, 1975.
- CHEN, X. M. et al. Diversity and antimicrobial and plant-growth-promoting activities of endophytic fungi in *dendrobium loddigesii* rolfe. **Journal of plant growth regulation**, p.328-337, 2010.
- COSTA, P. H. A. et al. Crescimento e níveis de solutos orgânicos e inorgânicos em cultivares de *vigna unguiculata* submetidas à salinidade. **Rev. Bras. Bot.**, p.289-297, 2003.
- CRUZ, J. L. et al. Influência da salinidade sobre o crescimento, absorção e distribuição de sódio, cloro e macronutrientes em plantas de maracujazeiro amarelo. **Bragantia**, p.279-284, 2006.
- DANTAS, J. P.; et al. Avaliação de genótipos de caupi sob salinidade. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 6, n. 3, p.425-430, 2002.
- DETMANN, K. da S. C. et al. Comparação de métodos para a observação de fungos micorrízicos arbusculares e endofíticos do tipo dark septate em espécies nativas de Cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, p.1883-1890, 2008.
- DIAS, L. B. **Água nas plantas**, Universidade Federal de Lavras, 2008.
- DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 03, p. 350-356, 1956.
- ECKARDT, E. A. et al. Perrin R. M. Plant Biology 2001. **Plant Cell**. v.13, p.2165-2173, 2001.
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Manual de métodos de análise de solo. CNPS. 2 ed. Rio de Janeiro, 212p., 1997.
- EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. 2. ed. Londrina: Planta, 404p, 2006.
- EPSTEIN, E. nutrição mineral das plantas: princípios e perspectivas, Ed. Universidade de São Paulo, 341p, 1975.
- FARIAS, S. G. G. et al: Estresse salino no crescimento inicial e nutrição mineral de gliricídia em solução nutritiva. **R. Bras. Ci. Solo**, p.1499-1505, 2009.
- FAO – World Agriculture 2030: Global food production will exceed population growth – <http://www.fao.org/english/newsroom/news/2002/7828>. Acesso 08/10/2011.

FAO – Water in agriculture opportunity untapped. Food and agriculture organization of the united nations, 2006.

FERREIRA, C. R. R. P. T.; GONÇALVES, J. S. Evolução e sazonalidade do consumo de fertilizantes no Brasil e nas unidades da federação no período de 1987-2005. *Informações Econômicas*, SP, v.37, n.11, Nov. 2007.

FERREIRA, P. A. et al. Estresse salino em plantas de milho: II – Macronutrientes aniônicos e suas relações com o sódio. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.9, p.11-15, 2005.

FRANCO, A. C.; LÜTTGE, U. Midday depression in savanna trees: Coordinated adjustments in photochemical, efficiency, photorespiration, CO₂ assimilation and water use efficiency. **Oecologia**, v.131, p. 356-365, 2002.

GAINES, T. P. et al. Automated determination of chlorides in soil and plant tissue by sodium nitrate. **Agronomy Journal**, p.371-374, 1984.

GHEYI, H. R. Problema de salinidade na agricultura irrigada. *In*: Oliveira, T. S.; Assis, R. N.; Romero, R. E.; Silva, J. R. C. (eds). **Agricultura, sustentabilidade e o semi-árido**. Fortaleza: DCS/UFC, 2000, p. 329-346.

GIBSON B. R., MITCHELL D. T. Sensitivity of ericoid mycorrhizal fungi and mycorrhizal *Calluna vulgaris* to copper mine spoil from Avoca, county Wicklow. **Biol. Environ. Proc. Roy. Ir. Acad.**, v.106, p.9-18, 2006.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of technique for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytol**, p.489-500, 1980.

GOI, S. R.; SOUZA, F. A. Diversity of soil microorganisms. **Floresta e Ambiente**. v.13, n.2, p.46-65, 2006.

HAMBLETON, S., CURRAH, R. S., Fungal endophytes from the roots of alpine and boreal Ericaceae. **Canadian Journal of Botany**, v.75, p.1570-1581, 1997.

HASELWANDTER, K.; READ, D. J. The significance of a root-fungus association in two *Carex* species of high alpine communities. **Oecologia**. v.53, p.352-354, 1982.

HOLANDA, J. S. et al.. Qualidade da água para irrigação. *In*: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados. Fortaleza: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade, 2010. p. 43-61.

IGARTUA, E. et al. Field responses of grain sorghum to a salinity gradient. **Field Crop Res.**, p.15-25, 1995.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Indicadores IBGE, Estatística da Produção Agrícola Junho 2012. 2012. em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em 01/08/2012.

- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento sistemático da produção agrícola, pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil. 2011. em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em 01/08/2012.
- JAHROMI, F. et al; Influence of salinity on the in vitro development of *Glomus intraradices* and on the in vivo physiological and molecular responses of mycorrhizal lettuce plants. **Microb Eco**, p.45-53, 2008.
- JUMPPONEN, A. Dark septate endophytes – are they mycorrhizal? *Mycorrhiza*. v.11, p.207-211. 2001.
- JUMPPONEN, A.; TRAPPE, J. M. Dark Septate Endophytes: a review of facultative biotrophic root-colonizing fungi. *New Phytologist*. v.140, p.295-310, 1998.
- KASCHUK, G. et al. Are the rates of photosynthesis stimulated by the carbon sink strength of rhizobial and arbuscular mycorrhizal symbioses? **Soil Biology & Biochemistry**, v. 41, p. 1233-1244. 2009.
- KAWASAKI, T. et al. Effects of high concentrations of sodium chloride and polyethylene glycol on the growth and ion absorption in plants: I. Water culture experiments in a greenhouse. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.75, p.75-85, 1983.
- KITAMURA, P. C. Agricultura sustentável no Brasil. Avanços e perspectivas. **Ciência e Ambiente**, v.27, p.7-28. 2003.
- KENNEDY, G. C.; WILSON, I. W. Plant functional genomics: opportunities in microarray databases and data mining, *Funct. Plant Biol*. p.295–314, 2004.
- KHAN, A. L. et al. Gibberellins producing endophytic *Aspergillus fumigatus* sp. LH02 influenced endogenous phytohormonal levels, plant growth and isoflavone biosynthesis in soybean under salt stress. **Process Biochem**, 46:440-447. 2011.
- KHAN, A. L. et al. Endophytic fungal association via gibberellins and indole acetic acid can improve plant growth under abiotic stress: an example of *Paecilomyces formosus* LHL10. **BMC Microbiology**, 12:3. 2012.
- KOSKE, R. E.; GEMMA, J. N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. **Mycol. Res**, p.486-505, 1989.
- KRAMER, P. J. Water relations of plants. Academic Press, New York. 489p, 1983.
- LACERDA, C. F. et al. A. Osmotic adjustment in roots and leaves of two sorghum genotypes under NaCl stress. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 15, p. 113-118, 2003.
- LACERDA, C. F. Interação salinidade x nutrição mineral. In: NOGUEIRA, R.J.C. et al. (eds.). **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**. Recife p.95-105, 2005.
- LACHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos, RiMa, 531p, 2004.

- LI, T. et al. Improved tolerance of maize (*Zea mays* L.) to heavy metals by colonization of a dark septate endophyte (DSE) *Exophiala pisciphila*. **Science of the Total Environment**, v. 409, p. 1069–1074, 2011.
- LIANG, C. et al. Arbuscular mycorrhiza and dark septate endophytes in a abandoned lead-zinc mine in Huize, Yunnan, China. **Chin. J. Appl. Environ. Biol.** v.13, p.811-817, 2007.
- LIMA, C. J. G. S. et al. Resposta do feijão caupi à salinidade da água de irrigação. **Ver. Verde**, p.79-86, 2007.
- LINGFEI, L.; ANNA, Y.; ZHIWEI, Z. Seasonality of arbuscular mycorrhizal symbiosis and dark septate endophytes in a grassland site in southwest China. **FEMS Microbiol Ecology**. v.54, p.367-373, 2005.
- LIKAR, M.; REGVAR, M. Diversity and seasonal variations of mycorrhiza and rhizosphere bacteria in three common plant species at the Slovenian Ljubljana Marsh. **Biol. Fertil Soils**. v.45, p.573-583, 2009.
- MALAVOLTA, E. et al. **Avaliação do estado nutricional de plantas: Princípios e aplicações**. Piracicaba, Potafos, 308p, 1997.
- MALINOWSKI, D. P.; BELESKY, D. P. *Neotyphodium coenophialum*-endophyte infection affects the ability of tall fescue to use sparingly available phosphorus. *Journal of Plant Nutrition*, **22**: 835–853. 1999.
- MANDYAN, K.; JUMPPONEN, A. Abundance and possible functions of the root-colonizing dark septate endophytic fungi. **Studies in mycology**, p.173-190, 2005.
- MARINS, J. F. et al. Occurrence and coexistence of arbuscular mycorrhizal fungi and dark septate fungi in aquatic macrophytes in a tropical river–floodplain system. **Aquatic Botany**, v.91, p.13-19, 2009.
- MIZRAHI, Y.; BLUMENTE, A; RICHMOND, A. E. Abscisic acid and transpiration in leaves in relation to osmotic root stress. **Plant Physiology**, v.46, p.169-171, 1970.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras, universidade Federal de Lavras, 2006. 729p.
- MULLEN, R. B. et al. Nitrogen uptake during snowmelt by the snow buttercup, *Ranunculus adoneus*. **Arctic and Alpine Research**. v. 30, p.121-125, 1998.
- MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, Cell and Environment**, v. 25, p. 239-250, 2002.
- NARISAWA, K. et al. Suppression of clubroot and *Verticillium* yellows in Chinese cabbage in the field by the endophytic fungus, *Heteroconium chaetospora*. **Plant Pathology**. v.49, p.141-146, 2000.

- NEVES, A. L. R. et al. Acumulação de biomassa e extração de nutrientes por plantas de feijão de corda irrigados com água salina em diferentes estádios. **Ciência Rural**, p.758-765, 2009.
- NEWSHAM, K. K. Phialophora graminicola, a dark septate fungus, is a beneficial associate of the grass *Vulpia ciliata* ssp. *ambigua*. **New Phytologist**. v. 144, p. 517-524, 1999.
- OLIVEIRA, F. A. et al. Desenvolvimento inicial do milhopioca. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 4, n. 2, p.149-155, abr./jun. 2009.
- PARIDA, A. K.; BANDHU, A. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v.60, n.3, p.324-349, 2005.
- PASTORI, G. M.; FOYER, C. H. Common components, networks and pathways of cross-tolerance to stress. The central role of 'redox' and abscisic-acid-mediated controls. **Plant Physiology**, v. 129, p. 460-468, 2002.
- PETERSON, R. L. et al. Associations between microfungus endophytes and roots: do structural features indicate function? **Botany**, v.86, p. 445-56, 2008.
- PIZARRO, J. C. A. Caracteres fisiológicos e bioquímicos da tolerância à salinidade em clones de cajueiro anão-precoce. 2006. 116f Dissertação (Mestrado em Bioquímica) Universidade Federal do Ceará, 2006.
- PLENCHETTE, C.; DUPONNOIS, R. Growth response of the saltbush *Atriplex mummularia* L. to inoculation with the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. **Journal of arid environments**, p. 535-540. 2005.
- PRAXEDES, S. C. et al. Acúmulo de prolina e aminoácidos em cultivares de feijão caupi com tolerância diferencial à salinidade. **Revista Caatinga**, p.211-214, 2009.
- PRISCO, J. T.; GOMES FILHO, E. Fisiologia e bioquímica do estresse salino em plantas. In: GHEYI, Hans Raj; DIAS, Nildo da Silva; LACERDA, Claudivan Feitosa de (Comp.). **Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados**. Fortaleza: INCT Sal, Cap. 10, p. 143-159. 2012.
- PRISCO, J. T. Alguns aspectos da fisiologia do estresse salino. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 3, p. 85-94, 1987.
- QUEIROZ, S. O. P.; BULL, L. T. Comportamento de genótipos de algodão herbáceo em função da salinidade do solo. **Irriga**, v.6, n.2, p.124-133, 2001.
- QUIN, F. M., In: SING, B. B., MOHAN RAJ, D. R., DASHIEL, K. E., JACKAI, L. E. N. (Ed.) **Advances in cowpea research**. Ibadan: IITA-JIRCAS, 1997.
- READ, D. J.; HASELWANDTER, K. Observations on the mycorrhizal status of some alpine plant communities. **New Phytol.** v.88, p.341-345, 1981.
- REDMAN, R. S. et al. Increased Fitness of Rice Plants to Abiotic Stress Via Habitat Adapted Symbiosis: A Strategy for Mitigating Impacts of Climate Change. **PLoS ONE**, 6: e14823. 2011.

- REDMAN, R. S. et al. Thermo tolerance generated by plant/fungal symbiosis. **Science**, 298: 1581. 2002.
- RHOADES, J. P. et al. Uso de águas salinas para a produção agrícola. Campina Grande: UFPB, 117p. Estudos FAO 48, 2000.
- RIBEIRO, K. G. Fungos endofíticos dark septate em arroz silvestre. 2011 69f. Dissertação (mestrado em recursos naturais) Universidade Federal de Roraima, 2011
- SCERVINO, J. M. et al. Exudates of dark septate endophyte (DSE) modulate the development of the arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) *gigaspora rosea*. **Soil, biology and biochemistry**, p.1753-1756, 2009.
- SINGH, B. B. et al. Recent progress in cowpea breeding. *In*: FATOKUN, C. A., TARAWALI, S. A., SINGH, B. B., KORMAWA, P. M., TAMO, M. (Ed.). **Challenges and opportunities for enhancing sustainable cowpea production**. Ibadan: IITA, p.287-300, 2002.
- SILVA, F. A. S; AZEVEDO, C. A. V. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. **Rev. Bras. Prod. Agroindustriais**, p.71-78, 2002.
- SILVA, F. E. O. et al. Desenvolvimento vegetativo do feijão caupi irrigado com água salina em casa de vegetação. **Revista Caatinga**, p.156-159, 2009.
- SILVA, F. L. B. et al. Interação entre salinidade e biofertilizante bovino na cultura do feijão de corda. **Ver. Bras. de Eng. Agrícola**, p.383-389, 2011.
- SILVA, S. M. S. et al. Desenvolvimento e produção de duas cultivares de mamoneira sob estresse salino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 12, n. 4, p.335-342, 2008.
- SILVA, J. V. et al. Physiological responses of NaCl stressed cowpea plants grown in nutrient solution supplemented whit CaCl_2 . **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.15, p. 99-105. 2003.
- SHINOZAKI, K; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; Gene expression and signal transduction in water-stress response. **Plant Physiol**, p.327-334, 1997.
- SMITH, S.E., READ, D.J. **Mycorrhizal symbiosis**. 3rd ed. San Diego: Academic Press; 2008.
- SONJAK, S. et al. Diversity of halophytes and identification of arbuscular mycorrhizal fungi colonising their roots in an abandoned and sustained part of Sečovlje salterns. **Soil Biol. Biochem**, v.41: p.1847–56, 2009.
- SOUSA, C. H. C. Análise da tolerância à salinidade em plantas de sorgo, feijão de corda e algodão. 2007 73f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) Universidade Federal do Ceará, 2007.

SOUSA, R. A. Efeitos da salinidade e da composição iônica da água de irrigação sobre o desenvolvimento de plantas de feijão de corda cv. Pitiuba. 2006 87f. Dissertação (Mestrado em irrigação e drenagem) Universidade Federal do Ceará, 2006.

SOUSA, R. A. et al. Crescimento e nutrição mineral do feijão-de-corda em função da salinidade e da composição iônica da água de irrigação. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 2, n. 1, p.75-82, jan./mar. 2007.

SULTANA, N. et al. Effect of salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. **Environmental and Experimental Botany**, Kidlington, v.43, p.211-220, 1999.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. 5. ed. Sunderland: Sinauer Associates, Inc., 2010. 782 p.

TESTER, M.; DAVENPORT, R. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Annals of Botany* 91, 503–527. 2003.

TREU, R. et al. Mycorrhizae from Denali national park and preserve Alaska. **Mycorrhiza**, p.21-29, 1996.

TORSVIK, V.; OVREAS, L.; THINGSTAD, T.F. Prokaryotic diversity-magnitude, dynamics, and controlling factors. **Science**, v.10, n.296. p.1064-1066, 2002.

UPSON, R. *et al.* Antarctic vascular plant species Taxonomic affinities of dark septate root endophytes of *Colobanthus quitensis* and *eschampsia antarctica*, the two native Antarctic vascular plant species. **Fungal Ecology**, v.2, p.184-196. 2009.

USUKI, F.; NARISAWA, K. A mutualistic symbiosis between a dark septate endophytic fungus, *Heteroconium chaetospora*, and a nonmycorrhizal plant, Chinese cabbage. **Mycologia**, v. 99, p. 175–84, 2007.

YEMM, E. M.; COCKING, E. C. Estimation of amino acids by ninhidrin. **Analyst**, p.209-213, 1955.

ZHANG, G. X. et al. Diverse endophytic nitrogen-fixing bacteria isolated from wild rice *Oryza rufipogon* and description of *Phytobacter diazotrophicus* gen. nov. sp. nov. **Archives of Microbiology**, v.189, p.431-439, 2008.

ZHANG, J. et al: Role of ABA in integrating plant responses to drought and salt stresses. **Field Crop Res**, p.111-119, 2006.