

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Metabolismo primário e desenvolvimento de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) em
resposta à inoculação com fungos micorrízicos arbusculares

Marco Aurélio Gabriel da Silva

Monografia apresentada à Coordenação do
Curso de Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Uberlândia, para a
obtenção do grau de Bacharel em Ciências
Biológicas.

UBERLÂNDIA - MG

Dezembro - 2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Metabolismo primário e desenvolvimento de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) em
resposta à inoculação com fungos micorrízicos arbusculares

Marco Aurélio Gabriel da Silva

Prof. Dr. Orlando Cavalari de Paula

Monografia apresentada à Coordenação do
Curso de Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Uberlândia, para a
obtenção do grau de Bacharel em Ciências
Biológicas.

UBERLÂNDIA - MG

Dezembro - 2019

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer à Deus, pela graça e misericórdia dispensadas a mim, pelos livramentos e orações atendidas, por me guardar em toda a trajetória que me trouxe até à graduação, mobilidade acadêmica e em meu retorno.

Ao meu Papai, Edgard por ser exemplo de homem sincero, respeitoso, honesto e trabalhador. Por orar por mim por todos os meses e anos, durante dias e noites trabalhando e criando expectativas quanto ao futuro, toda vez que repetia que cabia a nós somente estudar. Cheguei aqui pai, e estou preparando para voar ainda mais alto e para mais longe.

À minha Mamãe Rosimar Gabriel, minha primeira professora, meu reforço em casa e minha psicóloga. Sou grato por orar por mim, por me ouvir nas incontáveis vezes que reclamei, chorei e desabafei sobre tudo e sua palavra era de que iria doer e as vezes demorar, mas tudo iria passar e um dia eu riria de tudo.

Aos meus irmãos Lucas e Wisley pela parceria desde a infância por todos os momentos de descobertas fantásticas envolvendo eletricidade, eletrônica, telhados quebrados, caixas d'água e nossas primeiras experiências com o Corsel I de papai. Os melhores aprendizados desde a infância foram em vossa companhia, quem me dera poder viver em um loop infinito aqueles dias.

À minha esposa Everlane que foi companheira, incentivadora e financiou muitas de minhas empreitadas. À minha filha Joquebede por mudar minha vida pra sempre.

Aos meus professores Glênio e Sharlles por incentivar lá em 2008 meu ingresso na Universidade Federal de Uberlândia (UFU) e aos meus professores Luciana Calábria, Mário Paulo e Reginaldo Pedroso pelo incentivo incrível que dispensaram a mim e me fizeram querer a pesquisa, acreditar e querer ir mais longe.

À Luciana e Maria do Rosário por doarem meu primeiro computador em 2005, o que com certeza me ajudou nos estudos e me levou a universos que nem se quer imaginava existir.

Aos meus amigos da secretaria Leandro e Stefânia que durante a mobilidade acadêmica se desdobraram para me atender independente de horário, dia e prazos. Vocês foram minha âncora, sua organização e disponibilidade foram muito importantes.

À DRII pelo apoio, comunicação e disponibilidade em toda a mobilidade acadêmica.

Ao meu orientador Prof. Dr. Orlando Cavalari, um exemplo de pessoa e profissional coerente. Por suas aulas limpas, objetivas e bem planejadas, por sua orientação ao indicar o caminho quando decidi pela mobilidade acadêmica. Por me encorajar sempre e me empurrar em direção ao desconhecido cheio de desafios inimagináveis, mas que ao superar todos eles, cresci como homem, aluno, filho e pesquisador. A atitude simples de me encorajar fez com

que eu percorresse terras, mares, rios, biomas inteiros em minha moto com minhas tralhas de dormir e fazer comida e depois de meses participasse de congressos nacionais e internacionais levando alguns dos nossos resultados. Toda vez que eu chegava em um congresso, apresentando nosso trabalho eu me lembrava de nossas conversas e de todos encorajamentos. À professora Juliana Marzinek por estar nestes momentos de conversa e por encorajar e indicar onde eu trabalharia. Vocês foram cruciais por eu alcançar estes objetivos. Não fosse seus conselhos talvez nem concluiria a graduação.

Ao professor Marcus Alves da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) por me receber em um feriado de carnaval em 2017. Naquela época, coordenador do curso de ciências biológicas bacharelado, estava de prontidão somente para assinar meus documentos e me dar as boas-vindas. Por me aceitar como aluno em sua disciplina “Sistemática de Angiospermas” e por suas aulas que me fizeram apaixonar ainda mais pela pesquisa e pelo campo.

À Secretária Geisa Matias, sempre pronta a atender em todas as burocracias e trabalhosos procedimentos que envolviam minha presença como aluno de mobilidade na UFPE. Por sua compreensão e por ser sempre presente quando mais necessário.

À Profa. Leonor Costa Maia do Laboratório de Micorrizas da UFPE. Pernambucana arretada que me recebeu antes mesmo de eu chegar para cursar a mobilidade acadêmica na UFPE em Recife. Foi meu auxílio em todas as situações de impasse na universidade, sem sua ajuda eu jamais desenvolveria um projeto de iniciação científica. Obrigado pela paciência com a qual corrigia meus relatórios e resumos para congressos. Pelo financiamento de minhas idas a congressos em especial à minha participação no 21st World Congress of Soil Science (WCSS). Este evento mudou minha trajetória acadêmica para sempre.

Aos meus amigos do Laboratório de Micorrizas do Departamento de Micologia da UFPE. Este laboratório se tornou em poucos dias a minha casa. Em especial a Profa. Elaine, Prof. Gladstone Alves, José Hilton, Indra Escobar, Iolanda Ramalho, Joana Suassuna e Ubirajara. Eu sempre procurava estar ligado a tudo e a todos, sentia uma necessidade de aproveitar ao máximo pois sabia que meu tempo por aí tinha data certa para finalizar.

À Ingrid Lino pela orientação e por ter me acolhido como aluno de iniciação científica em seu projeto de doutorado. Por todos ensinamentos e atenção dispensados a mim até hoje.

E para concluir, agradeço à todos os meus colegas de turma, por todos os momentos vividos na maior parte dos períodos que cursei aqui na UFU, em especial aos “Parças da 80a”, Ângelo, João Pedro, Lucas, Luciano, Marcos Alexandre, Ruan, Tales e Vitor, por me acordarem durante as aulas nas incontáveis vezes que dormi, devido ao meu emprego durante a madrugada, pelas risadas, momentos de almoço no R.U., momentos de estudo, aulas de campo e laboratório. Sem vocês com certeza não seria tão empolgante e produtivo.

SUMÁRIO	Página
RESUMO	1
ABSTRACT	2
INTRODUÇÃO.....	3
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	4
Feijão-caupi	4
Micorrizas	5
Fungos Micorrízicos Arbusculares	6
Os FMA e culturas de grãos agronomicamente importantes.....	8
Metabolismo Primário das Plantas	10
MATERIAL E MÉTODOS	10
RESULTADOS	15
DISCUSSÃO	18
CONCLUSÃO.....	19
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20

RESUMO

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são micro-organismos do solo que contribuem para o desenvolvimento e crescimento das plantas com as quais formam simbiose, participam também da formação de solos e auxiliam na estabilidade de agregados edáficos. A utilização de FMA em culturas de importância agrônômica pode diminuir a necessidade de fertilizantes no sistema de plantio, reduzindo os custos de produção. Isso, porque aumentam a área de absorção e captação de importantes nutrientes como o fósforo e os transferem às plantas, recebendo em troca carboidratos. O feijão-caupi é amplamente beneficiado pela simbiose com os FMA, porém algumas cultivares tem demonstrado diversas respostas (positivas ou nulas) em relação à inoculação micorrízica. Para a Cultivar Miranda IPA 207, não há nenhum estudo sobre sua resposta à inoculação. Com o intuito de determinar os efeitos da associação micorrízica no crescimento, desenvolvimento e metabolismo primário do feijão-caupi (Miranda IPA 207), avaliaram-se os seguintes dados: altura da planta, diâmetro do caule, massa seca da parte aérea (MSPA) e concentração de metabólitos primários (carboidratos, aminoácidos, proteínas, clorofilas e carotenóides) após inoculação com os FMA: *Acaulospora longula* URM-FMA 07, *Claroideoglossum etunicatum* URM-FMA 03 e *Gigaspora albida* URM-FMA 11. A altura, diâmetro do caule e MSPA das plantas inoculadas não diferiram do controle, exceto, as plantas inoculadas com *G. albida*, que tiveram menor diâmetro e MSPA. Plantas inoculadas com *C. etunicatum* tiveram menor concentração de carboidratos e clorofilas em relação às plantas controle. A concentração de aminoácidos e proteínas foi menor em todos os tratamentos inoculados com FMA, já o teor de carotenóides foi menor nas plantas inoculadas com *A. longula* e *C. etunicatum* em relação às plantas controle. A ausência de resultados positivos nas plantas em virtude da inoculação micorrízica pode estar associada a um possível impacto na comunidade micorrízica nativa após a introdução dos fungos exóticos, interferindo diretamente no crescimento da cultivar testada. Esses resultados demonstram a necessidade de se verificar a resposta de cultivares à inoculação em condições de estufa visando conhecer a viabilidade da prática da inoculação antes da aplicação em campo já que os resultados esperados podem não ser os alcançados. Conclui-se que os FMA inoculados não contribuíram mais do que os FMA presentes no solo natural em incrementar o desempenho das plantas de feijão-caupi (Miranda IPA 207).

Palavras-chave: *Vigna unguiculata*; Mycorrhizal; Symbiosis; Primary Metabolism

ABSTRACT

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are soil microorganisms that contribute to the development and growth of plants by symbiosis, also participate in the formation and assist in the stability of soil aggregates. The use of AMF in crops can decrease the need for fertilizers, reducing production costs. Because they increase the area of absorption and uptake of essential nutrients such as phosphorus and transfer them to plants, receiving carbohydrates in return. Cowpea is mostly benefited by symbiosis with AMF, but some cultivars have shown several responses (positive or null) to mycorrhizal inoculation. For Cultivar Miranda IPA 207, there is no study on its response to inoculation. In order to determine the effects of mycorrhizal association on growth, development and primary metabolism of cowpea (Miranda IPA 207), the following data were evaluated: plant height, stem diameter, shoot dry mass (MSPA) and concentration of primary metabolites (carbohydrates, amino acids, proteins, chlorophylls, and carotenoids) after inoculation with AMF: *Acaulospora longula* URM-FMA 07, *Claroideoglonus etunicatum* URM-FMA 03, and *Gigaspora albida* URM-FMA 11. The height, stem diameter, and MSPA of the inoculated plants did not differ from the control, except the plants inoculated with *G. albida*, which had smaller diameter and MSPA. Plants inoculated with *C. etunicatum* had lower carbohydrate and chlorophyll concentration than control. The concentration of amino acids and proteins was lower in all AMF inoculated treatments, while the carotenoid content was lower in *A. longula* and *C. etunicatum* inoculated plants compared to control plants. The absence of positive results in plants due to mycorrhizal inoculation may be associated with a possible impact on the native mycorrhizal community after the introduction of exotic fungi, directly interfering with the growth of the tested cultivar. These results demonstrate the need to verify the response of cultivars to greenhouse inoculation in order to know the feasibility of inoculation practice before field application since the expected results may not be the ones achieved. It was concluded that the inoculated AMF did not contribute more than the AMF present in the natural soil in increasing the performance of cowpea plants (Miranda IPA 207).

Keywords: *Vigna unguiculata*; Mycorrhizal; Symbiosis; Primary Metabolism

INTRODUÇÃO

O (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) pertence à família Fabaceae e é uma das mais importantes leguminosas do cenário agrícola mundial, permitindo ao Brasil destaque como um dos maiores produtores e consumidores da cultura no continente latino-americano (FAO, 2016). O nordeste brasileiro é o maior produtor e consumidor, com estimativa de produção de 177.527 mil toneladas (Embrapa Arroz e Feijão, 2018). A cultura é adaptada as regiões de clima quente e seco e a solos de baixa fertilidade. As produções ocorrem principalmente nas áreas rurais, onde o cultivo possui relevante papel socioeconômico na agricultura familiar.

O feijão-caupi forma associações com micro-organismos do solo. Entre esses estão os fungos micorrízicos arbusculares (FMA), os quais são simbioses edáficos benéficos que formam as micorrizas arbusculares com a maioria das plantas terrestres. Nesta associação, o fungo recebe carboidratos e lipídeos da planta e em troca, fornece importantes nutrientes minerais, principalmente, o fósforo. Além disso, os FMA atuam na proteção radicular contra patógenos do solo (Sikes et al., 2010) e permitem a formação de uma grande rede de comunicação no solo entre as diferentes espécies vegetais (Sbrana et al., 2011), possibilitando maior interação e troca de informações entre as plantas por sinalização química (Bais et al., 2004).

O feijão-caupi é influenciado positivamente pela inoculação micorrízica em solos esterilizados (Tavares et al., 2009). Por outro lado, tem apresentado diferentes respostas (nula, positiva e negativa) em solo não-esterilizado, o que alerta para o desenvolvimento de pesquisas que visem a melhor combinação de isolado fúngico-cultivar em solos não-esterilizados antes da aplicação em campo.

As condições de cultivo do semiárido são marcadas por altas temperaturas, pluviosidade baixa e concentrada em um curto período (Moura et al., 2006). Alguns estudos envolvendo simbioses naturais são realizados para desenvolver cultivares melhor adaptadas (Powell, 1998). Estes estudos contribuem para o desenvolvimento de práticas agrícolas que incrementem a produtividade vegetal e que tenham baixo impacto ambiental em condições semiáridas (Lino, 2014).

Em 2013, a cultivar do feijão-caupi, Miranda IPA-207 (Costa et al., 2013) foi indicada para todo o Nordeste brasileiro, no entanto, nenhum estudo sobre a resposta

dessa cultivar à inoculação micorrízica foi descrita na literatura. Com o objetivo de avaliar o desempenho da Miranda IPA-207 em resposta à inoculação com FMA exóticos em solo não-esterilizado, testaram-se as seguintes hipóteses: **(a)** a inoculação com FMA exótico maximiza os teores de clorofila, carotenoides, proteínas e carboidratos e **(b)** que os isolados micorrízicos diferem quanto aos efeitos na planta: altura da planta, diâmetro do caule, massa seca da parte aérea (MSPA), concentração de aminoácidos, carboidratos, clorofilas e proteínas.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Feijão caupi

O feijão-caupi é originário da África e foi introduzido no Brasil no século XVI (Freire-Filho, 2016). A planta é cultivada em solos poucos férteis e constitui um dos componentes básicos da dieta dos brasileiros, sendo um importante alimento para as populações rurais e urbanas das regiões Norte e Nordeste. O teor proteico do feijão-caupi pode chegar a 33% e seu valor energético cerca de 341 cal/100g (Conab, 2018). Além disso, é fonte de fibras, vitamina E e aminoácidos livres (Baptista et al., 2016).

O caupi é o terceiro tipo de feijão mais cultivado no Brasil com crescimento de 18% na área plantada e 118,8% em produtividade na safra 2016/17 (Conab, 2017). As espécies *Phaseolus vulgaris* (feijão comum) e *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (feijão-caupi), são as de maior valor econômico com produção total de 3,4 milhões de toneladas na safra 2016/17, sendo 530 mil toneladas correspondentes a produção de feijão-caupi (Conab, 2018).

Além de sua importância socioeconômica, por ser produzida em pequenas, médias e grandes propriedades rurais, o feijão-caupi possui relevante papel ambiental por fazer parte do ciclo de rotação de culturas. Esta técnica alterna espécies vegetais diferentes numa mesma área agrícola com a finalidade de minimizar o desgaste do solo e contribuir para o controle de pragas e doenças (Conab 2018).

Visto que as condições de cultivo no Nordeste brasileiro são marcadas por altas temperaturas e baixa pluviosidade (Alves et al., 2009; Conab 2018), estudos objetivando a melhoria de cultivares que se adaptem a estas condições são importantes. Em 2013 a cultivar Miranda IPA-207 foi indicada para todo o Nordeste brasileiro. A cultivar Miranda IPA-207 resultante do cruzamento dos genótipos Vita 3 e CNCx 11-9D (Costa et al.,

2013) é tolerante ao estresse hídrico e altas temperaturas, características do semiárido nordestino, onde as microrregiões do Sertão do Araripe e Sertão do Pajeú se destacam como as principais áreas produtoras da espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (Conab, 2018; Costa et al., 2013).

O feijão-caupi se associa a micro-organismos do solo, os quais lhe propiciam melhores condições de crescimento e desenvolvimento (Cruz et al., 2017; Lima et al., 2015). Entre os micro-organismos edáficos, destacam-se os fungos micorrízicos arbusculares (FMA). A utilização dos FMA em cultivos caracteriza-se por ser um manejo biosustentável e de baixo custo que pode beneficiar o crescimento, desenvolvimento (Silva et al., 2004), e o estado nutricional das plantas (Samarão et al., 2011).

Micorrizas

O solo está estruturado de maneira descontínua e heterogênea possibilitando a formação de micro-habitats que variam entre si em função de características físico-químicas e da disponibilidade de nutrientes (Mattos, 2015). Os microorganismos são essenciais para a saúde do solo, participam de vários processos ecológicos primordiais para as plantas e contribuem para a agregação do solo, ciclagem de matéria orgânica e controle biológico de pragas e doenças (Moreira & Siqueira, 2006; Berbara et al., 2006; Rillig et al., 2018).

No solo, as interações envolvendo microorganismos ocorrem principalmente na rizosfera, que é a região do solo sob influência das raízes (Berbara et al., 2006). As micorrizas (mycetes – fungo; rhiza – raiz), são associações mutualísticas entre fungos e raízes de plantas formadas por, praticamente, todos os grupos de vegetais, desde avasculares (briófitas e pteridófitas) e vasculares (gimnospermas e angiospermas), ocasionando grande diversidade morfológica e fisiológica (Maia, 2010). As micorrizas compreendem a interação mais ancestral entre organismos heterótrofos e autotróficos e uma das mais importantes e antigas relações mutualísticas, datando de mais de 400 milhões de anos, quando houve a conquista do ambiente terrestre pelas plantas durante a era Paleozoica (Moreira & Siqueira, 2006; Maia, 2010).

No processo evolutivo estes fungos colonizavam apenas a rizosfera e a superfície das raízes e subsequentemente desenvolveram mecanismos que permitiram a penetração

das raízes inter e intracelularmente por meio de estruturas fisiológicas especializadas como arbúsculos e vesículas (Pirozynski, 1975). Como resultado, alguns grupos de fungos perderam a capacidade saprofítica tornando-se biotróficos obrigatórios (Moreira & Siqueira, 2006).

As micorrizas apresentam associações específicas com biomas diversos e diferentes tipos de vegetais. São classificadas em: ectomicorriza, ectendomicorriza, micorriza arbuscular, arbutóide, monotropóide, ericóide e orquidóide de acordo com o fungo associado, hospedeiro e estruturas que se formam intra e/ou intercelularmente nas raízes vegetais (Allen et al., 1995; Smith & Read, 2008).

Fungos Micorrízicos Arbusculares

Dentre as micorrizas presentes nos solos, a arbuscular, formada por fungos micorrízicos arbusculares – FMA e raízes de plantas, é o tipo mais comum e possui ocorrência generalizada nos diversos ecossistemas, sendo encontrados em 90% das espécies de plantas micorrízicas terrestres (Bonfante & Genre, 2010; Maia, 2010; Smith & Read 2008). São formadas por fungos classificados como Glomeromycota, que são asseptados e colonizam as raízes da maior parte das Gimnospermas e Angiospermas, além de algumas representantes das Briófitas e Pteridófitas (Moreira & Siqueira, 2006).

Os FMA são biotróficos obrigatórios, o que significa que não são capazes de completar seu ciclo de vida sem estarem associadas com uma planta viva (Maia, 2010). Possuem reprodução assexuada, com a formação de esporos denominados glomerosporos (Maia, 2010). Atuam em processos fundamentais para o solo e a planta, mediando processos que melhoram a fertilidade do solo, um dos fatores que influenciam diretamente a produtividade (Carvalho & Moreira, 2010; Chagas et al., 2010).

Os FMA são conhecidos também por atuarem no processo de formação dos solos, por também produzirem uma glicoproteína imunorreativa recalcitrante chamada glomalina. Componente da parede celular das hifas, a glomalina quando acumulada no solo, após o processo de decomposição dos microorganismos, possui a capacidade de agregar partículas do solo, estabilizar agregados, absorver o carbono naturalmente e criar espaços sobre a superfície que permitem a penetração de água, oxigênio e raízes (Ramos & Martins 2010; Maia, 2010).

As células do córtex dos vegetais são colonizadas pelo fungo inter e intracelularmente sendo que no último caso há formação de arbúsculos que são estruturas intraradiculares altamente ramificadas e especializadas na transferência de nutrientes entre os simbiontes (Folli-Pereira et al., 2012; Ramos & Martins 2010; Trabelsi & Mhamdi, 2013). Além do micélio e arbúsculo, vesículas também podem ser encontradas nas partes internas da raiz, externamente podem ser encontradas células auxiliares e o micélio extraradicular (Figura 1).

Figura 1 – Estruturas especializadas de fungos micorrízicos arbusculares. Arbúsculo (a); esporo (b) e raiz colonizada com vesículas (c e d).

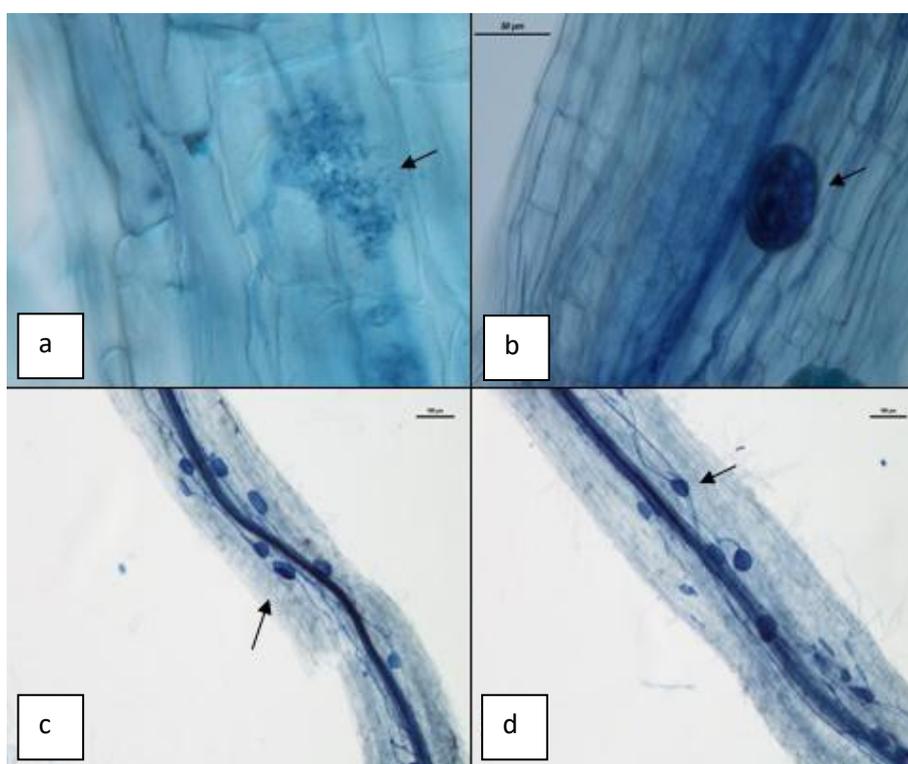


Foto: Araeska Carena.

Vesículas e células auxiliares são estruturas dos FMA conhecidas pela capacidade de armazenar o carboidrato recebido pelas plantas (Maia, 2010). Em troca dos carboidratos recebidos, os FMA transferem nutrientes para os hospedeiros vegetais. O nutriente de maior importância transferido para as plantas por meio dos FMA é o fósforo (P), o qual é de fundamental importância para o desenvolvimento das plantas, que possuem alta taxa de requerimento deste nutriente ou estão em solos com baixa disponibilidade de P (Maia, 2010).

O efeito da aplicação do isolado fúngico sobre o crescimento das plantas é especialmente significativo com relação aos nutrientes de baixa mobilidade no solo, como o P. A absorção de nutrientes pelas plantas pode ser incrementada pela associação micorrízica devido ao crescimento do micélio fúngico que é superior ao crescimento das raízes das plantas, alcançando regiões do solo que não são influenciadas pelas raízes (Moreira & Siqueira, 2006). Apesar de não serem considerados biofertilizadores por alguns autores, por não adicionar P ao solo, o papel dos FMA não pode ser ignorado uma vez que altera a dinâmica de P no solo auxiliando sua absorção pela planta, um dos maiores benefícios dos FMA (Cardoso et al., 2010). Na simbiose, os FMA também auxiliam a planta em estresses bióticos e abióticos, com maior absorção de água e maior crescimento (Moreira & Siqueira, 2006).

Os FMA e culturas de grãos agronomicamente importantes

As culturas de grãos são beneficiadas pela associação com FMA. Liu et al. (2000) observaram que a inoculação com *Glomus intraradices* proporcionou aumento significativo na massa seca da parte aérea (MSPA) e de micronutrientes como Zn, Cu e Fe em plantas de milho cultivadas em casa de vegetação. O desenvolvimento de milho em condições inoculadas com FMA também é observado quando o benefício da associação é considerado sob condição de estresse. Avaliando plantas de milho sob estresse hídrico, Ren et al., (2019) verificaram aumento no crescimento das plantas de até 33% em comparação a plantas não inoculadas. Os autores constataram também que plantas inoculadas com FMA foram mais eficientes no uso da água sob estresse hídrico, sendo 46% maior do que nas plantas não inoculadas na condição de estresse, e 24% maior do que nas plantas não micorrizadas e bem irrigadas, sendo considerados fundamentais na melhoria da tolerância à seca em cultivo de plantas sob condições de baixa disponibilidade de água.

O estresse hídrico pode acarretar efeitos tóxicos nas plantas tais como a destruição dos centros de reações e conseqüentemente a interrupção do fluxo fotossintético de elétrons (Zhu et al., 2012). Além de favorecer o uso eficiente da água, Zhu et al. (2012) observaram que os FMA incrementaram a concentração de clorofilas em plantas de milho sob estresse hídrico, resultando em aumento na eficiência fotossintética da planta. Os autores concluíram também que a associação micorrízica protege as plantas de milho

contra o estresse hídrico por meio da melhoria das trocas gasosas, concentração de clorofila e uso eficiente da água.

Mahdi & Atabani, (1992) analisando a resposta de soja e feijão inoculados com FMA constataram que plantas associadas a estes fungos tiveram maior teor de N e P em relação a plantas que receberam apenas o fertilizante triplo fosfato, demonstrando que a associação micorrízica foi capaz de incrementar os teores de N e P de maneira mais eficiente que o fertilizante. Quando associadas aos FMA e fertilizante, os resultados foram ainda mais satisfatórios.

A associação micorrízica beneficia outros parâmetros além de nutricionais e de crescimento da planta. Analisando dez espécies de fungos micorrízicos (associados a plantas de amendoim cultivadas por 120 dias em casa de vegetação), Pawar et al., (2018) verificaram que plantas micorrizadas apresentaram resultados significativos positivos em relação as plantas controle (não micorrizadas). Os efeitos tais como aumento da porcentagem do óleo extraído das sementes e incremento do teor de ácidos graxos, conferiram maior vida útil ao óleo extraído em armazenamento.

Os FMA podem ser inoculados combinados com outros micro-organismos como os rizóbios. Meng et al. (2015) descreveram um aumento no rendimento no cultivo consorciado de feijão e soja após a inoculação combinada de FMA e rizóbios. A fixação de N da soja foi beneficiada por esta combinação de micro-organismos. Também foi observada uma transferência de N da soja para o milho após essa inoculação combinada o que é um incentivo à agricultura sustentável, permitindo que as plantas utilizem o N do solo com mais eficiência.

Em cultivo de feijão-caupi, Silva et al. (2018) realizaram estudo envolvendo 23 espécies de FMA e constaram que os FMA promoveram absorção de P, aumento da MSPA e do rendimento das plantas cultivadas em casa de vegetação. A otimização da absorção de P e sua transferência para a planta promovida pelos fungos pode indicar ao agricultor menor necessidade de fosfatação no solo, reduzindo conseqüentemente o custo de produção.

Metabolismo Primário das Plantas

O metabolismo primário das plantas compreende a fotossíntese com formação de ATP, sacarose, amido e intermediários, a respiração e o metabolismo do N (Almeida, 2017). Os metabólitos primários possuem função estrutural, plástica e de armazenamento de energia e exercem uma função metabólica direta que é serem compostos fundamentais como intermediários nas vias catabólica e anabólica da planta (Almeida, 2017).

Os FMA são capazes de influenciar positivamente a concentração de clorofilas e carotenóides de plantas de feijão-caupi. Rocha et al. (2019) observaram também que em condições de estresse hídrico as plantas tiveram incremento nos teores de N e P e que quando associado a bactérias os FMA auxiliaram as plantas no ganho de MSPA.

Plantas de feijão-caupi quando submetidas a estresse salínico têm um decréscimo no crescimento, biomassa, teores de clorofila e água, mas quando associadas com FMA, a atividade de enzimas oxidantes pode ser maximizada, fortalecendo a defesa da planta contra o efeito negativo da salinidade (Abeer, et al., 2015).

MATERIAL E MÉTODOS

Inoculantes micorrízicos

Foram utilizados inóculos de três isolados de FMA: *Acaulospora longula* (URM-FMA 07), *Claroideoglossum etunicatum* (URM-FMA 03) e *Gigaspora albida* (URM-FMA 01), fornecidos pelo Laboratório de Micorrizas, Departamento de Micologia, Universidade Federal de Pernambuco. Foram utilizadas estas espécies pelo fácil acesso, por ter sido isoladas e serem comumente utilizadas pelo laboratório.

Multiplicação dos inoculantes micorrízicos

Os fungos foram multiplicados em vasos com capacidade para 2 kg por três meses (em casa de vegetação) sendo utilizados areia e solo (1:1 v/v) como substrato e plantas de milho (*Zea mays* L.) como hospedeiras multiplicadoras (Figura 2). A areia utilizada foi lavada em água corrente e deixada em estufa a 100 °C até ficar completamente seca. O solo utilizado foi esterilizado. A esterilização foi realizada por três vezes sendo

intercaladas por um dia, no qual o solo ficou em descanso. A cada nova esterilização o solo foi completamente revolvido.

Figura 2 – Plantas de milho como hospedeiras multiplicadoras utilizadas para multiplicação dos inoculantes micorrízicos.



Foto: O Autor, 2017.

Número de propágulos infectivos de FMA do solo inoculante

O número mais provável de propágulos infectivos (NMP), foi determinado a partir da metodologia de Feldmann & Idzack (1994): solo dos inoculantes foi diluído sucessivamente nas proporções 0 (sem diluição), 1:10, 1:100, 1:1000, utilizando solo peneirado, desinfestado em autoclave, como diluente. Os potes foram mantidos em casa-de-vegetação, tendo como hospedeiro o milho (*Zea mays* L.). Após 30 dias, as raízes foram retiradas do substrato e coradas, como descrito na avaliação da colonização micorrízica, para contagem de raízes colonizadas e não colonizadas e estimativa do NMP.

Solo e condições experimentais

O solo utilizado é de uma área de cultivo de feijão-caupi, na Estação Experimental de Itapirema do Instituto Agrônomo de Pernambuco-IPA (Goiana-PE). O solo é do tipo Argiloso Vermelho Amarelo distrófico (Embrapa, 2006) e tinha as seguintes características: P (1 mg/dm³), pH 6,0, e 1,0; 0,75; 0,08 e 0,0 cmolc/dm³ de Ca, Mg, K e Al, respectivamente.

Em casa de vegetação o solo foi destorroado, peneirado e distribuído em vasos com capacidade para 3 kg, que receberam sementes da cultivar Miranda IPA-207 de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Os potes foram previamente envolvidos por um saco plástico com capacidade para 3kg para melhor acondicionamento do solo. No total foram 10 potes para cada tratamento e 10 potes para o controle totalizando 40 potes.

Figura 3 – Semeadura do feijão (a) e germinação das sementes (b e c).



Foto: O Autor, 2017.

A inoculação com FMA consistiu de solo-inóculo com cerca de 3.000 propágulos infectivos/por vaso aplicados diretamente no solo abaixo das sementes. No total foram semeadas 5 sementes por pote a fim de garantir a germinação em todas as repetições de cada tratamento (Figura 3). Ao fim de 15 dias ocorreu o desbaste aleatório das plantas excedentes e foi deixada apenas uma planta por pote até o fim do experimento (Figura 4).

Figura 4 – Plantas em crescimento após a germinação (a), desbaste de plantas excedentes (b) e plantas únicas por pote em crescimento após o desbaste (c).



Foto: O Autor, 2017.

As plantas foram mantidas em casa-de-vegetação por 70 dias, correspondendo ao ciclo da cultivar (Figura 5). Ao final do experimento os vasos foram desmontados e as plantas colhidas, separando-se a parte radicular da parte aérea.

Figura 5 – Plantas de feijão-caupi em casa-de-vegetação durante 70 dias (a), com presença de flor (b) e fruto (c).

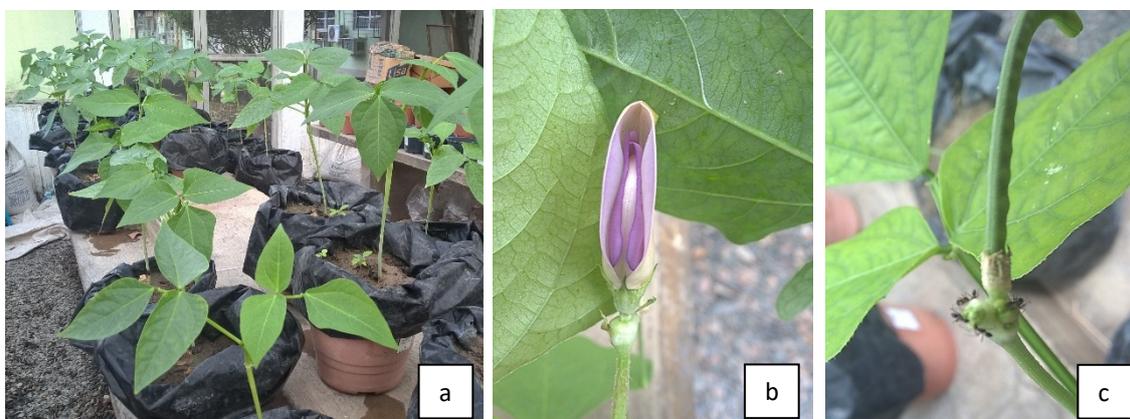


Foto: O Autor, 2017.

Análises das plantas

Análise do tecido foliar

Para determinação dos teores de metabólitos primários, uma folha fresca de cada uma das 40 plantas foi armazenada em papel alumínio e depositada em nitrogênio líquido para posterior análise bioquímica do tecido foliar. As análises bioquímicas foram realizadas utilizando 50 mg do tecido foliar de cada uma das 10 repetições por tratamento inclusive do controle, totalizando em 40 amostras para cada uma das análises.

Foram determinados os teores de carboidratos solúveis totais (CST) com leitura em espectrofotômetro realizada a 490 nm, clorofilas (*a*, *b* e *totais* com leituras a 470; 646,8; 663,2 nm, respectivamente) e carotenoides a 710 nm, proteínas solúveis totais (PST) a 595 nm e aminoácidos livres totais (ALT) a 570 nm de acordo com as metodologias de DUBOIS et al. (1956); LICHTHENTHALER & BUSCHMANN (2001); BRADFORD (1976); MOORE & STEIN (1948), respectivamente.

Análise biométrica

Ao fim do experimento foram determinados: a altura da planta (com o auxílio de fita métrica), o diâmetro do caule (com o auxílio de um paquímetro) (Figura 6) e a biomassa seca da parte aérea das plantas (as amostras foram secas em estufa de ventilação forçada a 70 °C por 72h) de cada uma das repetições, sendo 10 por tratamento totalizando 40 plantas incluindo o controle.

Figura 6 – Coleta de dados biométricos com auxílio de paquímetro para diâmetro (a) e fita métrica para altura (b)

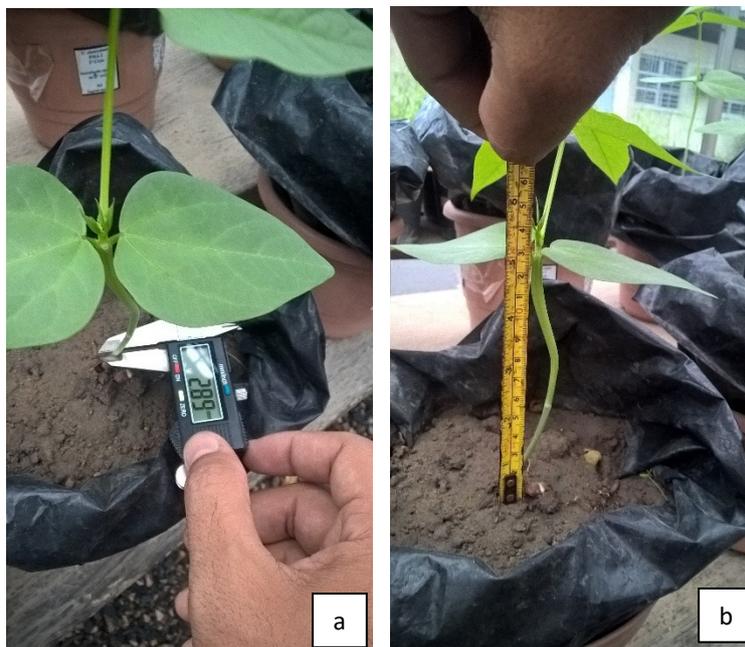


Foto: O Autor, 2017.

Colonização micorrízica

Para avaliação da colonização micorrízica, amostras (0,5 g) de raízes das plantas de cada tratamento (10 plantas, totalizando 40 plantas incluindo o controle) foram lavadas com água corrente, diafanizadas (KOH 10%), coradas com azul de tripano (0,05%) em lactoglicerol (Phillips & Hayman, 1970) e analisadas pelo método de interseção dos quadrantes (Giovannetti & Mosse, 1980).

Delineamento experimental e análise dos dados

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos, em dez repetições, utilizando-se solo não esterilizado (contendo FMA nativos): T1= plantas controle (sem inoculação e com a presença da microbiota natural); T2= inoculação com *A. longula*; T3= inoculação com *C. etunicatum*; T4= inoculação com *G. albida*. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Para avaliar o efeito de três espécies de fungos micorrízicos (*A. longula*, *G. albida* e *C. etunicatum*) nos parâmetros de biometria (altura, diâmetro e MSPA) e produtividade primária da planta (aminoácidos, carboidratos e proteínas) *Vigna unguiculata* (L.) Walp. foram utilizados modelos lineares, sendo um modelo para cada parâmetro. Os modelos incluíram cada parâmetro como variável resposta e as espécies de FMA e o controle como variáveis preditoras. Quando necessário os dados foram transformados usando log 10 para assumir os pressupostos de normalidade, homocedasticidade e controlar efeitos de *outliers*. Os modelos lineares foram analisados no software R 3.6.1 utilizando a função `lm` do pacote “stats”.

RESULTADOS

Para as variáveis resposta Carboidratos e Clorofilas, apenas a espécie *C. etunicatum* diferiu do controle levando a uma menor concentração de carboidratos e clorofilas (Tabela 1). Quando comparados entre si os tratamentos diferiram quanto aos efeitos na planta com atenção para a espécie *G. albida* que foi o tratamento que menos influenciou estas variáveis (Tabela 1).

Todas as plantas inoculadas diferiram do controle levando a uma menor concentração de aminoácidos e proteínas (Tabela 1). As espécies diferiram entre si quanto aos efeitos na planta com diminuição significativa na concentração de aminoácidos e proteínas em plantas inoculadas com *C. etunicatum* (Tabela 1).

A concentração de carotenóides foi afetada em todos tratamentos. Os tratamentos utilizando *A. longula* e *C. etunicatum* como inoculantes fúngicos, diferiram do controle e levaram a uma menor concentração deste metabólito (Tabela 1). Os tratamentos diferiram entre si e a espécie *G. albida* foi a que menos afetou a concentração de carotenóides (Tabela 1).

Os tratamentos não diferiram entre si e não diferiram do controle quanto à altura. O diâmetro foi afetado apenas no tratamento com o inoculante *G. albida* que diminuiu este parâmetro. A espécie *A. longula* e *C. etunicatum* foi a que menos afetou o diâmetro das plantas que recebeu este inoculante fúngico. A MSPA foi afetada apenas no tratamento utilizando *G. albida* como inoculante. Esta espécie foi capaz de influenciar as plantas diminuindo a MSPA. *A. longula* e *C. etunicatum* não diferiram do controle e não foram capazes de influenciar significativamente a MSPA das plantas (Tabela 1).

Tabela 1 – Dados de metabólitos Primários: log 10 (Carboidratos), log 10 (Aminoácidos), log 10 (Proteínas), carotenóides e Dados Biométricos: altura, diâmetro e massa seca da parte aérea (MSPA) das plantas inoculadas e não inoculadas com FMA (somente com FMA nativos).

Parâmetro	Controle		<i>A. longula</i>		<i>C. etunicatum</i>		<i>G. albida</i>		F	p
	Média	Desvio	Média	Desvio	Média	Desvio	Média	Desvio		
log 10 (Carboidratos)	3,597 ^a	0,125	3,437 ^{ac}	0,151	2,928 ^b	0,163	3,736 ^{ad}	0,121	56,24	<0,001
log 10 (Aminoácidos)	2,457 ^a	0,180	2,234 ^b	0,105	1,208 ^c	0,241	2,019 ^b	0,147	87,07	<0,001
log 10 (Proteínas)	1,506 ^a	0,090	1,127 ^b	0,137	0,044 ^c	0,195	0,332 ^d	0,234	139,70	<0,001
Clorofila a	3,122 ^a	1,127	2,331 ^a	1,052	0,144 ^b	0,080	3,365 ^a	0,631	27,79	<0,001
Clorofila b	1,242 ^a	0,438	0,913 ^{ab}	0,382	0,088 ^d	0,045	1,356 ^{ac}	0,287	27,96	<0,001
Clorofilas Totais	4,364 ^a	1,563	3,244 ^{ab}	1,430	0,232 ^c	0,118	4,721 ^{ad}	0,900	28,15	<0,001
Carotenóides	0,941 ^a	0,335	0,560 ^b	0,273	0,043 ^c	0,032	0,867 ^a	0,209	25,83	<0,001
log 10 (Altura)	1,413 ^a	0,022	1,452 ^a	0,087	1,399 ^a	0,032	1,408 ^a	0,041	1,83	0,15
Diâmetro	3,996 ^a	0,096	4,124 ^a	0,262	3,900 ^a	0,204	3,642 ^b	0,174	10,02	<0,001
MSPA	1,695 ^a	0,191	1,638 ^a	0,337	1,574 ^a	0,363	1,123 ^b	0,235	7,28	<0,001

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

DISCUSSÃO

Após a inoculação micorrízica, de modo geral, espera-se que as plantas apresentem maior crescimento vegetal, uma vez que prática da inoculação pode influenciar positivamente a MSPA (Silveira et al., 1992) e melhorar o estado nutricional da planta, permitindo especialmente, a aquisição aprimorada do fósforo, que é fundamental para os processos bioenergéticos (Silveira et al., 1992; Smith e Read; 2008). No entanto, essa condição não foi observada no presente trabalho. Resultados semelhantes ao do presente estudo foram descritos por Sato (1999), Caldeira et al. (1999), Alves et al. (2009) e Taffouo et al. (2013) os quais observaram que o crescimento vegetal, MSPA e incremento nos teores de N e P não foram influenciados pela inoculação com FMA. Os autores atribuíram a ausência de benefícios da inoculação à presença da comunidade nativa, a qual foi capaz de impedir ação dos isolados exóticos e, conseqüentemente, a expressão dos seus possíveis efeitos. Esse resultado ressalta que os inoculantes micorrízicos precisam ser aprimorados em experimentos na presença de fungos nativos. O entendimento do comportamento de inoculantes em solos não esterilizados pode resultar no desenvolvimento de inoculantes eficientes em condições de campo.

Incremento no metabolismo primário como carboidratos e proteínas em plantas de feijão-caupi foram observados por Silva et al. (2018) utilizando diferentes isolados das mesmas espécies abordadas no presente trabalho. As variações nas respostas de promoção de incremento vegetal quando inoculadas podem ser resultados de fatores como isolado micorrízico, solo, clima, espécies e variedades vegetais utilizadas. Resultados positivos de aumento no teor de nutrientes das plantas, são importantes pois nos possibilita desenvolver tecnologia limpa capaz de promover uma agricultura sustentável, diminuindo o uso de fertilizantes químicos nos solos agrícolas uma vez que os FMA são eficientes na captação e transporte destes elementos para a planta (Pawar et al., 2018), favorecendo assim o metabolismo primário.

É importante ressaltar que alguns parâmetros analisados como taxa de crescimento e MSPA, inicialmente podem sofrer influência negativa da inoculação micorrízica e depois de um tempo serem favorecidos. França et al. (2014), por exemplo, observaram (durante um experimento de 150 dias, envolvendo a inoculação com FMA e o cultivo de café) que inicialmente, as plantas foram influenciadas negativamente pela inoculação, indicando que primariamente os fungos representaram drenos de assimilados, mas que

depois de estabelecidos no solo, beneficiaram as plantas. No experimento conduzido por França et al. (2014), ao fim do experimento a altura, a área foliar e MSPA e Clorofilas foram superiores em plantas inoculadas em relação a plantas controle.

Neste trabalho a qualidade e/ou quantidade do solo inóculo pode ter sido suprimida pela quantidade e/a qualidade de inóculos encontrados naturalmente no solo nativo. Este tipo de comportamento foi observado pelo trabalho de Do Rego et al. (2015) que estudando a resposta do feijão-caupi à inoculação com FMA e Rizóbio em condições de campo, sugeriram que o solo inóculo contendo hifas, esporos e raízes colonizadas não era equivalente ao potencial dos propágulos infectivos das populações nativas de FMA, que dominaram os inóculos fúngicos introduzidos; assim, não houve promoção do crescimento vegetativo das plantas nem aumento da MSPA, em comparação com os tratamentos não inoculados.

Janoušková *et al.* (2013) descreveram resultados semelhantes ao do presente estudo, atribuindo a ausência de resultados positivamente significativos da inoculação com FMA a um possível direcionamento de recursos para interações competitivas desencadeadas por adição de propágulos de FMA exóticos que podem interferir no equilíbrio natural da comunidade nativa.

Portanto, é fundamental investigar a melhor combinação fungo-planta em condições de casa de vegetação antes da aplicação em grande escala no campo, aumentando e/ou garantindo as chances de sucesso das práticas de inoculação em solos não desinfestados (Pelegrino *et al.*, 2011).

Um estudo mais amplo envolvendo a comunidade micorrízica é necessário para responder se os isolados fúngicos do presente trabalho foram capazes de se estabelecerem no solo e/ou se o tempo do experimento foi curto para promoção de benefícios para a planta.

CONCLUSÃO

Conclui-se que os FMA *Acaulospora longula* (URM-FMA 07), *Claroideoglossum etunicatum* (URM-FMA 03) e *Gigaspora albida* (URM-FMA 01) introduzidos não favorecem o crescimento de plantas e o metabolismo primário de plantas de feijão-caupi cultivar Miranda IPA 207 sob condição de casa de vegetação, sendo necessário

determinar se a cultivar testada responde a doses maiores de inoculante e a outros isolados já foram testados em outras cultivares indicadas para o Nordeste Brasileiro.

REFERÊNCIAS:

ALLEN, E. B., ALLEN, M. F., HELM, D. J., TRAPPE, J. M., MOLINA, R., & RINCON, E. Patterns and regulation of mycorrhizal plant and fungal diversity. **Plant and Soil**, v. 170, n. 1, p. 47-62, 1995.

ALMEIDA, D. F. L. S. **Estudo das vias metabólicas das plantas na síntese de pigmentos naturais**. 2017. Tese de Doutorado.

ALVES, G.S.; SIQUEIRA, J.O.; STÜRMER, S.L. Eficiência de fungos micorrízicos arbusculares isolados de solos sob diferentes sistemas de uso na região do Alto Solimões na Amazônia. **Acta Amazônica**, v. 39, n. 3, p. 477-488, 2009.

BAIS, H. P., PARK, S. W., WEIR, T. L., CALLAWAY, R. M., & VIVANCO, J. M. How plants communicate using the underground information superhighway. **Trends in plant science**, 9(1), 26-32., 2004.

BAPTISTA, A., PINHO, O., PINTO, E., CASAL, S., MOTA, C., & FERREIRA, I. M. Characterization of protein and fat composition of seeds from common beans (*Phaseolus vulgaris* L.), cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) and bambara groundnuts (*Vigna subterranea* L. Verdc) from Mozambique. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 11, n. 2, p. 442-450, 2017.

BERBARA, R. L., SOUZA, F. A., & FONSECA, H. M. A. C. III-Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição. **Nutrição mineral de plantas. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, MG**, p. 74-85, 2006.

BONFANTE, P., & GENRE, A. Mechanisms underlying beneficial plant–fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. **Nature communications**, v. 1, p. 48, 2010.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry** v.72, p.248-254, 1976.

CALDEIRA, M. V. W., DA SILVA, E. M. R., FRANCO, A. A., & ZANON, M. L. B. (1999). Efeito de fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento de duas leguminosas arbóreas. **Ciência florestal**, 9(1), 63-70.

CARDOSO, E. J. B. N., CARDOSO, I. M., NOGUEIRA, M. A., BARETTA, C. R. D. M., & PAULA, A. M. D. Micorrizas arbusculares na aquisição de nutrientes pelas plantas. **Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil**, 2010.

CARVALHO, T. S.; MOREIRA, F. M. S. simbioses tripartites leguminosas – fungos micorrízicos e bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas. In: SIQUEIRA, J. O. et al. (Eds.). **Micorrizas no Brasil: os primeiros 30 anos**. Lavras: Editora da UFLA, 2010. 716 p.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. A Cultura do Feijão. Brasília: Conab. 2018. 244p. Disponível também em: <<http://www.conab.gov.br>> Acesso em: 16/11/2019

COSTA, A.F.; SOUZA, M.C.M.; CANUTO, V.T.B. COITINHO, R.L.B.C.; TAVARES, J.A.; FONSECA, M.A.C. Miranda IPA 207, Nova Cultivar de Feijão-Caupi para o Nordeste Brasileiro. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana** v.18, n.1, p. 39-43, 2013.

DA CONCEIÇÃO CRUZ, E., SOBREIRA, A. C., DE BARROS, D. L., & GOMIDE, P. H. Elizângela et al. Doses de fósforo e fungos micorrízicos arbusculares no crescimento e produção do feijão-caupi em Roraima, 2017.

COSTA, A. F., DE SOUZA, M. D. C. M., CANUTO, V. T. B., COITINHO, R. L. B., TAVARES, J. A., & FONSECA, M. A. C. Miranda IPA 207, Nova Cultivar de Feijão-Caupi para o Nordeste Brasileiro. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v. 18, n. 1, p. 39-43, 2013.

DO REGO, F. A., DIOP, I., SADIO, O., DA SYLVA, M. C., AGBANGBA, C. E., TOURÉ, O., & WADE, T. K. Response of cowpea to symbiotic microorganisms inoculation (Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Rhizobium) in cultivated soils in Senegal. **Universal Journal of Plant Science**, v. 3, n. 2, p. 32-42, 2015.

DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry** v.28, p.350-356, 1956.

EMBRAPA arroz e feijão. **Dados conjunturais da produção de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) e caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) no Brasil (1985 a 2016): área, produção e rendimento.** Embrapa Arroz e Feijão, 2017. Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/socioeconomia/index.htm>> Acesso em: 11 Nov. 2019

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional e Pesquisa em Solos. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. Brasília: Embrapa-SPI; Rio de Janeiro: Embrapa-cx ZSolos, 306 p, 2006.

FAO. FAOSTAT. **Crops. Cow peas, dry.** Disponível em:

<<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>> Acesso em: 18 Nov. 2019.

FELDMANN, F.; IDCZAK, E. Inoculum production of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for use in tropical nurseries. In: NORRIS, J.R., READ, D.J., VARMA, A.K. (Eds), *Techniques for mycorrhizal research*, **Academic Press**, San Diego, pp. 799-817. 1994.

FRANÇA, A. C., CARVALHO, F. P., FRANCO, M. H., AVELAR, M. D., SOUZA, B. P., & STÜRMER, S. L. Crescimento de mudas de cafeeiro inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares. 2014.

FREIRE FILHO, F. R. Melhoramento de feijão-caupi no Brasil. In: **Embrapa Amazônia Oriental-Resumo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO NACIONAL DE FEIJÃO-CAUPI, 4., 2016, Sorriso. Feijão-caupi: avanços e desafios tecnológicos e de mercado: resumos. Brasília, DF: Embrapa, 2016.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, v. 84, n. 3, p. 489-500, 1980.

JANOUSHKOVÁ, MARTINA, et al. "Effects of inocula additions in presence of a pre-established arbuscular mycorrhizal fungal community." **Applied and environmental microbiology** (2013): AEM-02135.

JUNIOR, A. F. C., RAHMEIER, W., FIDELIS, R. R., DOS SANTOS, G. R., & CHAGAS, L. F. B. Eficiência agronômica de estirpes de rizóbio inoculadas em feijão-caupi no Cerrado, Gurupi-TO. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 4, p. 709-714, 2010.

JUNIOR, A. F. C., RAHMEIER, W., FIDELIS, R. R., DOS SANTOS, G. R., & CHAGAS, L. F. B. Eficiência agrônômica de estirpes de rizóbio inoculadas em feijão-caupi no Cerrado, Gurupi-TO. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 4, p. 709-714, 2010.

LICHTENTHALER, H.K. & BUSHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-vis spectroscopy. *Current Protocol and Food Anal. Chem.* F4.3, 1-8, 2001

LIMA, C. S., DA SILVA CAMPOS, M. A., & DA SILVA, F. S. B. Mycorrhizal Fungi (AMF) increase the content of biomolecules in leaves of *Inga vera* Willd. seedlings. **Symbiosis**, v. 65, n. 3, p. 117-123, 2015.

LINO, I.A.N. **Produtividade do milho e atividade biológica do solo sob influência de fungos micorrízicos arbusculares e de adubação orgânica**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. Recife. 2014.

LIU, A., HAMEL, C., HAMILTON, R. I., MA, B. L., & SMITH, D. L. Acquisition of Cu, Zn, Mn and Fe by mycorrhizal maize (*Zea mays* L.) grown in soil at different P and micronutrient levels. **Mycorrhiza**, v. 9, n. 6, p. 331-336, 2000.

MAHDI, A. A.; ATABANI, I. M. A. Response of Bradyrhizobium-inoculated soyabean and lablab bean to inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhizae. **Experimental agriculture**, v. 28, n. 4, p. 399-408, 1992.

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

MATTOS, M. L. T. Microbiologia do solo. **Embrapa Clima Temperado-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2015.

Meng, L., Zhang, A., Wang, F., Han, X., Wang, D., & Li, S. Arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobium facilitate nitrogen uptake and transfer in soybean/maize intercropping system. **Frontiers in plant science**, v. 6, p. 339, 2015.

MOORE, S. & STEIN, W. H. Photometric ninhydrin method for use in chromatography of amino acids. *The Journal of Biological Chemistry* v.176, p.367-388, 1948.

MOREIRA, F.M.S. SIQUEIRA, J.O. Bioquímica do solo. **Lavras: Editora UFLA**, p. 729, 2006.

MOURA, J. B., GUARESCHI, R. F., CORREIA, A. R., GAZOLLA, P. R., & CABRAL, J. S. R. Produtividade do feijoeiro submetido à adubação nitrogenada e inoculação com *Rhizobium tropici*. **Global Science and Technology**, v. 2, n. 3, 2009.

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

PELLEGRINO, E., BEDINI, S., AVIO, L., BONARI, E., & GIOVANNETTI, M. Field inoculation effectiveness of native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi in a Mediterranean agricultural soil. **Soil Biology and Biochemistry**, 43(2), 367-376 (2011).

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

PIROZYNSKI, K. A.; MALLOCH, D. W. The origin of land plants: a matter of mycotrophism. **Biosystems**, v. 6, n. 3, p. 153-164, 1975.

POWELL, A. A. Seed improvement by selection and invigoration. **Scientia agricola**, v. 55, n. SPE, p. 126-133, 1998.

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

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

RILLIG, M. C. Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 84, n. 4, p. 355-363, 2004.

ROCHA, I., MA, Y., VOSÁTKA, M., FREITAS, H., & OLIVEIRA, R. S. Growth and nutrition of cowpea (*Vigna unguiculata*) under water deficit as influenced by microbial inoculation via seed coating. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 205, n. 5, p. 447-459, 2019.

SAMARÃO, S. S., RODRIGUES, L. A., MARTINS, M. A., MANHÃES, T. N., & DA MOTA ALVIM, L. A. Desempenho de mudas de gravioleira inoculadas com fungos

micorrízicos arbusculares em solo não-esterilizado, com diferentes doses de fósforo. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 33, n. 1, p. 81-88, 2011.

SATO, A. Y., NANNETTI, D. D. C., PINTO, J. E. B. P., SIQUEIRA, J. O., & BLANK, M. F. A. Fungos micorrízicos-arbusculares no desenvolvimento de mudas de helicônia e gébera micropropagadas. **Horticultura Brasileira**, v. 17, n. 1, p. 25-28, 1999.

SBRANA, C.; FORTUNA, P.; GIOVANNETTI, M. Plugging into the network: belowground connections between germlings and extraradical mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi. **Mycologia**, 103.2: 307-316, 2011.

SIKES, B. A.; POWELL, Jeff R.; RILLIG, Matthias C. Deciphering the relative contributions of multiple functions within plant-microbe symbioses. **Ecology**, 91.6: 1591-1597, 2010.

SILVA, G. A. E., SIQUEIRA, J. O., STÜRMER, S. L., & MOREIRA, F. Effectiveness of Arbuscular Mycorrhizal Fungal Isolates from the Land Uses of Amazon Region in Symbiosis with Cowpea. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 1, p. 357-371, 2018.

SILVA, M. D., CAVALCANTE, U. M. T., SILVA, F. D., SOARES, S. A. G., & MAIA, L. C. Crescimento de mudas de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis) associadas a fungos micorrízicos arbusculares (Glomeromycota). **Acta botanica brasílica**, v. 18, p. 981-985, 2004.

SILVEIRA, A.P.D. Micorrizas. Microbiologia do solo. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 257-282, 1992.

SMITH, S.E.; READ, D.J. Mycorrhizal Symbiosis. **London, Academic Press**. 803p, 2008.

TAFFOUO, V. D., NGWENE, B., AKOA, A., & FRANKEN, P. (2014). Influence of phosphorus application and arbuscular mycorrhizal inoculation on growth, foliar nitrogen mobilization, and phosphorus partitioning in cowpea plants. **Mycorrhiza**, 24(5), 361-368.

TAVARES, R. C., MENDES-FILHO, P. F., DE LACERDA, C. F., & CRUZ, J. S. RODRIGO. Produção de Biomassa do Feijão-de-corda Associado aos Fungos Micorrízicos Arbusculares sob diferentes níveis de salinidade. **Cadernos de Agroecologia**, v. 4, n. 1, 2009.

TRABELSI, D.; MHAMDI, R. Microbial inoculants and their impact on soil microbial communities: a review. **BioMed research international**, v. 2013, 2013.

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