

Avaliação da influência da salinidade na germinação, no desenvolvimento e diversidade de microrganismos endofíticos da leguminosa *Mucuna aterrima*

Evaluation of the influence of salinity on germination, development and diversity of endophytic microorganisms of the leguminous *Mucuna aterrima*

Alan Passos Cruz

Fundação Comunitária de Ensino Superior de Itabira, Brasil

E-mail: alanpassos@live.com.pt

Giovanna Moura Calazans

Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil

E-mail: giovannacalazans@hotmail.com

Juni Cordeiro

Fundação Comunitária de Ensino Superior de Itabira, Brasil

E-mail: juni.cordeiro@funcesi.br

Pablo Lopes Quintão

Fundação Comunitária de Ensino Superior de Itabira, Brasil

E-mail: pablo.quintao@funcesi.br

Recebido: 26/01/2018 – Aceito: 17/02/2018

Resumo

A utilização de leguminosas é um método visado para a recuperação de fertilidade dos solos, visto que além de fornecerem matéria orgânica também fixam nitrogênio ao solo. Por isso, mostram-se relevantes pesquisas acerca da capacidade das leguminosas para utilização em solos salinos com o intuito de se auxiliar a recuperação destes. Dessa forma, este trabalho teve como objetivo avaliar a influência da salinidade na germinação, no desenvolvimento e no isolamento de microrganismos endofíticos da leguminosa mucuna preta (*Mucuna aterrima*). O experimento foi realizado com tratamentos de NaCl, em delineamento inteiramente casualizado (5x3) com cinco tratamentos (0,0; 0,025; 0,05; 0,1; 0,2 mol NaCl/L) e três repetições. Foram analisados a porcentagem de germinação, a massa seca da raiz, caule e folhas e efetuada a contagem de bactérias e fungos endofíticos. Como resultado, verificou-se uma redução da porcentagem da taxa de germinação com o aumento da salinidade. Apesar de não ser observada interferência na riqueza de microrganismos, verificou-se maior resistência das bactérias à salinidade. Dessa forma, este estudo indica que a mucuna preta não é indicada

para plantio em solos com concentrações salinas maiores que 0,1 mol NaCl/L, pois essa concentração apresenta toxicidade para a planta e não favorece sua germinação.

Palavras-chave: Adubação verde; Solos salinos; Recuperação de solos degradados; microrganismos em plantas com estresse salino.

Abstract

The use of legumes is a method for the recovery of soil fertility, since in addition to providing organic matter also fixes nitrogen to the soil. Therefore, relevant research on the legume capacity for use in saline soils has been shown to assist the recovery of these legumes. Thus, the objective of this work was to evaluate the influence of salinity on germination, development and isolation of endophytic microorganisms of the black mucuna legume (*Mucuna aterrima*). The experiment was carried out in a completely randomized design (5x3) with five treatments (0.0, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2 mol NaCl/L) and three replications. The percentage of germination, the dry mass of the root, stem and leaves were analyzed and counted bacteria and endophytic fungi. As a result, there was a reduction in the percentage of the germination rate with the increase in salinity. Although no interference was observed in the richness of microorganisms, bacterial resistance to salinity was verified. Thus, this study indicates that black mucuna is not indicated for planting in soils with saline concentrations higher than 0.1 mol NaCl/L, because this concentration presents toxicity to the plant and does not favor its germination.

Keywords: Green adubation; Saline soils; Recovery of degraded soils; Microorganisms in saline stressed plants.

1. Introdução

A salinização dos solos é causada pelo acúmulo de sais, que dificultam a obtenção de água pelas plantas, correspondendo a uma forma de degradação dos solos que pode ser agravada por fatores antrópicos e climáticos. Destaca-se que estes processos têm maior frequência nas regiões áridas e semiáridas do Brasil, fazendo com que sejam necessárias a utilização de técnicas para melhoramento da qualidade do solo (BOSCO, 2006). Contudo, a recuperação de solos salinos é difícil, dada a necessidade de lixiviação destes pela água de chuva ou da irrigação. Neste contexto, a baixa umidade, baixa precipitação e altas temperaturas desfavorecem o processo de recuperação desses solos (CORDEIRO, 1983).

A introdução de espécies pioneiras em um solo degradado consiste no estágio inicial de recuperação, visto que estas possuem um crescimento rápido e permitem a reabilitação da função e dos serviços do ecossistema (CARPANEZZI, 1998). De acordo com Cordeiro (1983), pode-se adotar técnicas de manejo com plantas tolerantes a salinidade para auxiliar a recuperação de solos salinos, sendo extremamente relevante o estudo de espécies que se desenvolvam em altas concentrações de sais.

De maneira geral, espécies de leguminosas são frequentemente utilizadas como pioneiras na recuperação de solos degradados, uma vez que são, em sua maioria, de rápido crescimento, tolerantes às variáveis condições edafoclimáticas, e ainda contribuem para o incremento de nitrogênio no solo por meio do processo de simbiose com bactérias fixadoras deste elemento, contribuindo para a fertilidade do solo (NOGUEIRA *et al.*, 2012). Além das bactérias fixadoras de nitrogênio, torna-se importante isolar e avaliar os microrganismos endofíticos, pois estes podem auxiliar a planta no combate às doenças em seu crescimento, servindo como base de pesquisas na área de biotecnologia.

Dessa forma, este trabalho visou avaliar a influência da salinidade na germinação, no desenvolvimento e diversidade de microrganismos endofíticos da leguminosa mucuna preta (*Mucuna aterrima*).

2. Metodologia

Esta pesquisa utilizou abordagem quantitativa que, segundo Botelho e Cruz (2013), corresponde ao método que utiliza técnicas estatísticas, transformando os dados coletados em números para posteriormente classificá-los e analisá-los. Desta forma, por meio da abordagem quantitativa buscou-se analisar a porcentagem de germinação das sementes, mensurar a massa seca das folhas, caule, raízes, e quantificar a variedade de microrganismos endofíticos das plantas em diferentes tratamentos com cloreto de sódio (NaCl).

O experimento utilizou a aquisição de dados primários por observação experimental, que tem como principal objetivo analisar a alteração causada na variável dependente (SANTOS, 1992).

Nesta pesquisa foram utilizados sacos plásticos pretos contendo 10 kg de solo retirado nas coordenadas geográficas 19°41'03.14"S e 43°13'20.63"O, localizado na Bacia Hidrográfica do Ribeirão Candidópolis, Itabira (MG). No total foram utilizados 15 sacos plásticos representando cinco tratamentos e três repetições. Foram testados cinco tratamentos:

um controle apenas com água destilada com concentração de 0 mol NaCl/L e mais quatro tratamentos com concentrações salinas de 0,025; 0,05; 0,1 e 0,2 mol NaCl/L.

O experimento foi dividido em três etapas: (1) avaliação da porcentagem de germinação das sementes; (2) determinação da massa seca das plantas e (3) isolamento e determinação da diversidade de microrganismos endofíticos na mucuna preta.

Ressalta-se que foram plantadas 20 sementes em cada um dos 15 vasos, totalizando 300 sementes. Adotou-se um delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema 5 x 3 (cinco tratamentos e três repetições), sendo analisado o tempo despendido para a germinação das sementes em cada vaso e anotado as sementes que germinadas aos 5, 6, 7, 12, 13 e 16 dias após o plantio.

Após o crescimento das plântulas foi efetuado um desbaste, deixando sete plantas por vaso. Aos 28 e 50 dias, foi adicionada solução nutritiva adaptada de Sarruge (1975). A solução de nutrientes foi isenta de nitrogênio, para evitar a formação de nódulos nas leguminosas, e isenta de cloro, para não interferir no teor de salinidade. Além disso, não foram adicionados nitrato de amônio, cloreto de cálcio e cloreto de zinco. A irrigação realizada foi conforme a necessidade, com as respectivas soluções salinas padronizadas.

Para a verificação da massa seca, as plantas foram coletadas com 61 dias de plantio, lavadas e separadas por tratamentos em caule, raiz e folhas. A massa seca média do tratamento foi obtida após secagem das plantas em estufa a 65°C durante 72 horas até a obtenção de peso constante.

Para verificar o desenvolvimento de microrganismos endofíticos, selecionou-se aleatoriamente duas plantas de cada concentração testada no experimento (0,0; 0,025; 0,5 e 0,1 mol NaCl/L). Faz-se importante salientar que esta análise não foi realizada para a concentração 0,2 mol NaCl/L, visto que não houve germinação de sementes.

Assim, as plantas selecionadas foram lavadas e separadas em raiz, caule e folhas. Cada parte foi cortada em pedaços de 1 x 1cm, e em seguida desinfetadas em solução de álcool 70% por 1 minuto, seguido de hipoclorito de sódio 3% por 4 minutos e de álcool 70% por 30 segundos. Em seguida, os pedaços foram lavados em água destilada autoclavada e inseridos em meio de cultura na placa de petri, utilizando o bico de Bunsen, para evitar contaminações por microrganismos do ambiente. Utilizou-se o meio de cultura LB (Luria Bertani), com acréscimo de ciclohexamida, para isolamento de bactérias e o meio BDA (batata, dextrose, ágar), com acréscimo de antibiótico, para o isolamento de fungos.

Para cada um dos quatro tratamentos, foram utilizadas seis placas para isolamento de fungos e seis placas para isolamento de bactérias, resultando em um total de 48 placas

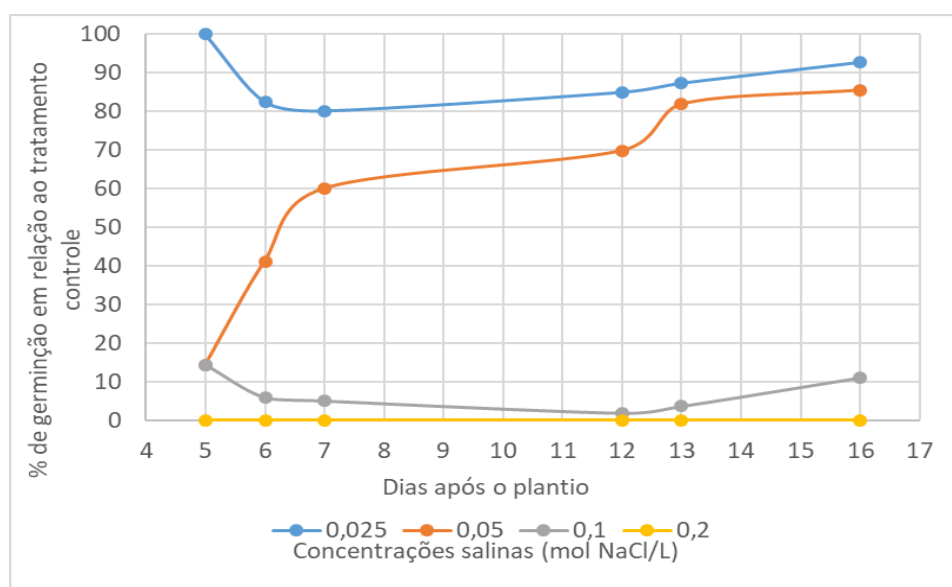
analisadas. As placas de petri foram armazenadas e incubadas a 27°C, sendo que aos dez dias de incubação foi observado o crescimento dos microrganismos endofíticos e anotada a diversidade e quantidade destes em cada placa.

No tratamento dos dados foi utilizada a estatística descritiva, que corresponde a um conjunto de métodos que visa tabular e analisar os dados, resumindo-os em gráficos e tabelas para facilitar a interpretação dos mesmos (CASTANHEIRA, 2012; GUEDES *et al.*, 2016). Dessa forma, com a utilização de gráficos e tabelas foi analisada a porcentagem de germinação das sementes em comparação com o tratamento controle; obtida a média da massa seca das raízes e da parte aérea; e determinada a riqueza e abundância de microrganismos endofíticos.

3. Resultados e discussão

O Gráfico 1 analisa a germinação das sementes, sendo possível notar que, quando considerado o tratamento controle, 100% das sementes germinaram. De maneira geral, verifica-se ainda que a germinação das sementes de mucuna foram afetadas principalmente nas maiores concentrações salinas testadas (0,1 e 0,2 mol NaCl/L).

Gráfico 1 - Porcentagem de germinação das sementes de mucuna preta em relação aos tratamentos de NaCl



Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

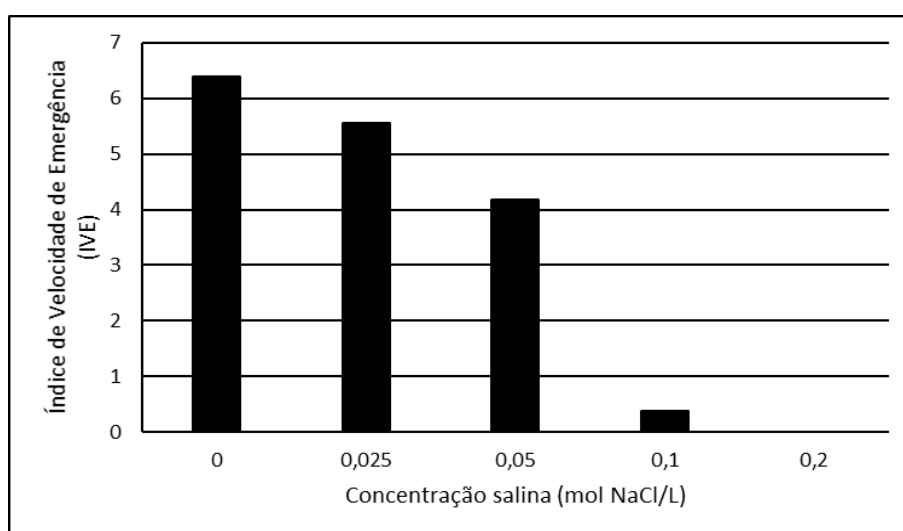
Ressalta-se a concentração de 0,2 mol NaCl/L, não houve germinação das sementes. Neste sentido, segundo Donovan e Day (1969), cada espécie de planta tem uma tolerância a

salinidade sem que ocorra a redução do seu rendimento, sendo que, a partir deste limite, a planta diminui a sua produtividade. Desse modo, concentrações elevadas de sais acima daquelas toleradas pela planta, comprometem seu desenvolvimento por efeito osmótico (MUNNS, 2005). Machado Neto *et al.* (2006) ressaltam que testes de salinidade na variedade de feijão, cultivar (IAC – Carioca 80SH), indicaram que este suportou uma pressão osmótica de até -1,2 MPa, enquanto Pinheiro *et al.* (2013), em análises com o feijão Guandu, encontrou germinação na concentração máxima de -0,6 MPa.

Os dois tratamentos com as menores concentrações salinas testadas (0,025 e 0,05 mol NaCl/L) apresentaram comportamentos diferentes quanto à germinação inicial das sementes, mas mantiveram-se próximos considerando a germinação final. No 5º dia após o plantio, o tratamento de 0,025 mol NaCl/L apresentou germinação igual ao tratamento controle, enquanto o tratamento de concentração de 0,05 mol NaCl/L, apresentou germinação apenas de 15% em comparação ao tratamento controle. Desse modo, constatou-se que o aumento da concentração salina no solo influenciou em um atraso da velocidade de germinação das sementes.

Para medir a velocidade de germinação das sementes nos diferentes tratamentos testados, foi calculado o Índice de Velocidade de Emergência (IVE) (MAGUIRE, 1962). O IVE é calculado dividindo o número de sementes germinadas pelos seus respectivos dias de germinação. Assim, os IVEs dos tratamentos testados são apresentados no Gráfico 2.

Gráfico 2 – Índice de Velocidade de Emergência (IVE) das sementes de mucuna preta em diferentes concentrações salinas



Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

O aumento das concentrações salinas apresentou uma redução do índice de velocidade de emergência que se inicia no tratamento 0,025 e se estende até o tratamento 0,2 com redução em porcentagens de 13%, 34% 94% e 100% em comparação ao tratamento controle. Salienta-se que também foi observada por Lopes e Macedo (2008) uma redução da velocidade de germinação de couve chinesa em tratamentos com potencial osmóticos de -0,2; -0,4; - 0,6 e -0,8 Mpa.

De acordo com Moterle (2006) e Lopes e Macedo (2008), a diminuição da germinação é resultante da dificuldade para absorção de água, visto que o solo apresenta um potencial hídrico negativo. Segundo Dias e Blanco (2010), com o acréscimo dos tratamentos de NaCl, a pressão osmótica se eleva, reduzindo a capacidade da semente em absorver água em seu processo inicial de embebição, que corresponde à um procedimento físico que envolve o potencial hídrico das sementes e o meio externo, aumentando o volume de água nas sementes e iniciando o processo germinativo (SANTOS *et al.*, 2014).

Assim, o tratamento máximo suportado pela *Mucuna aterrima* foi verificado na concentração de 0,1 mol/L de NaCl, com uma condutividade elétrica de 21,32 dS/m, sendo possível notar no experimento a dificuldade de germinação nas maiores concentrações salinas testadas (Figura 1).

Figura 1 - Desenvolvimento da *Mucuna aterrima* nos tratamentos de NaCl (mol/L), 16 dias após o plantio



Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

A Tabela 1 exibe os resultados da avaliação de massa seca da *Mucuna aterrima*, realizada após 61 dias do plantio.

Tabela 1 – Massa seca média (g) das folhas, caule e raízes por planta de mucuna preta, em cada um dos tratamentos empregadas nesta pesquisa

Tratamento	MASSA SECA (g)			
	Folhas	Caule	Raiz	Parte aérea
0	0,50	0,23	0,20	0,93
0,025	0,48	0,29	0,14	0,91
0,05	0,59	0,32	0,09	1,00
0,1	0,50	0,16	0,19	0,84
0,2	0,00	0,00	0,00	0,00

Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

Conforme os resultados, não é possível notar um comportamento padrão da massa seca com o acréscimo da concentração salina. Em relação a parte aérea (folha e caule), a menor massa seca média obtida foi no tratamento 0,1 mol NaCl/L (0,84 g/planta), o que representa massa seca 10% menor em comparação ao tratamento controle.

As análises com 0,05 mol NaCl/L (1,00 g/planta), com maior massa seca média da parte aérea encontrada ultrapassou em 0,07g o tratamento controle. Destaca-se que neste tratamento as massas secas médias das folhas e caule foram maiores, enquanto houve uma redução da massa das raízes, fato observado por Oliveira *et al.* (2015) em testes com pinhão-manso.

Pesquisas realizadas por Pertel *et al.* (2003) e Moraes *et al.* (2005) também tiveram um pequeno aumento da massa seca nos tratamentos de 0,05 mol/L NaCl, em referência ao tratamento controle, sendo observado que em valores maiores, houve redução elevada da parte aérea de leguminosas.

Segundo Bosco (2006), a tolerância da planta à salinidade está relacionada a capacidade de exclusão de íons dos seus tecidos, sendo que cada espécie de planta tem uma tolerância a salinidade sem a redução do seu rendimento. Assim, quantidades elevadas de sais solúveis aumentam a pressão osmótica do solo fazendo com que a raiz da planta não consiga superar a pressão osmótica mesmo com o solo úmido, processo chamado de seca fisiológica (DIAS; BLANCO, 2010).

A seca fisiológica ocasiona na planta a inibição de seu crescimento, potencial hídrico, nutrição mineral, fechamento estomático e baixa produtividade (CORDEIRO, 1983; FLOWER *et al.*, 1986 *apud* BOSCO, 2006; BETHKE; DREW, 1992).

Segundo a teoria de inibição osmótica, as plantas estressadas por sais necessitam fazer um ajuste osmótico em suas células para extrair água, gastando a energia que seria para o seu crescimento, assim não se desenvolvendo (CORDEIRO, 1983). Conforme Munns e Termaat (1986), a planta sofre redução de seu tamanho devido à dificuldade de absorção de água e, logo em sequência, as folhas sofrem com concentrações elevadas de sais, facilmente visualizada.

Os resultados da análise dos microrganismos endofíticos realizados no caule, folha e raiz a partir de duas plantas selecionadas de cada tratamento testado, podem ser visualizados na Tabela 2.

Tabela 1 – Abundância e riqueza de microrganismos endofíticos encontrados nas plantas de mucuna preta, tratadas em diferentes concentrações salinas

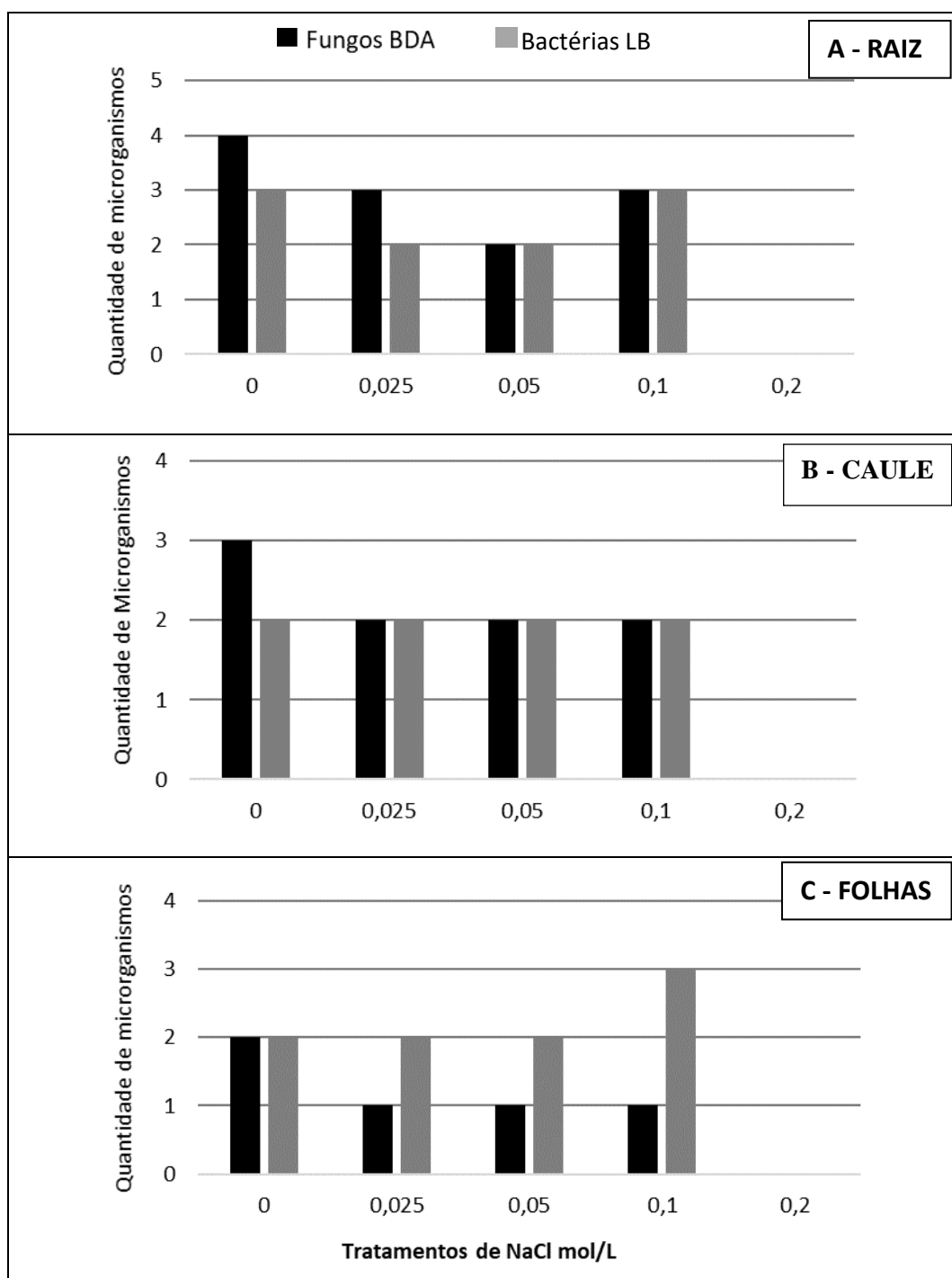
Tratamentos testados (Concentração de NaCl, em mol/L)	BACTÉRIAS		FUNGOS	
	Abundância	Riqueza	Abundância	Riqueza
0,0	7	7	9	9
0,025	5	0	5	4
0,05	7	3	5	3
0,01	8	1	6	4
Total	27	11	25	20

Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

Nota-se na Tabela 2 que a abundância (quantidade de indivíduos) de bactérias e fungos são semelhantes em todos os tratamentos, entretanto, quando considerada a riqueza (quantidade de espécies) as bactérias mostram que não são resistentes às variações salinas em comparação aos fungos.

Os Gráficos 3 (A, B e C) permitem verificar que cada região da planta tem uma abundância de microrganismos, com característica de redução à medida que se afasta da raiz.

Gráfico 3: Abundância de microrganismos endofíticos presentes na raiz (A), caule (B) e folhas (C) da mucuna preta, nos tratamentos testados nesta pesquisa



Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

Faz-se importante destacar que nos tratamentos de 0,025 e 0,5 mol/L NaCl foram observadas duas situações: a primeira relaciona-se à dificuldade dos microrganismos colonizarem toda a planta em quantidades iguais; já a segunda corresponde à redução dos fungos pelo aumento dos tratamentos de NaCl e seu potencial osmótico negativo. Por outro

lado, as bactérias conseguiram suportar o potencial osmótico negativo proporcionado pelas soluções de NaCl, entretanto com riqueza menor que a dos fungos.

Neste contexto destaca-se que as bactérias em ambientes com salinidade podem se tornar mais resistentes do que os fungos por converter carbono do substrato em carbono celular (YUAN, 2007; ANDERSON, 1994). Yuan (2007) e USP (2016) afirmam em suas pesquisas, que os microrganismos em geral têm dificuldades de sobreviverem em solos salinos, uma vez que a salinidade pode afetar a resistência do microrganismo.

4. Considerações Finais

Em relação à avaliação da germinação das sementes, verificou-se uma redução desta germinação com um aumento da concentração salina no solo. Pode-se concluir que a mucuna preta não deve ser utilizada em solos com salinidade de 0,1 mol/L NaCl ou maiores, uma vez que em solos com concentração de sais de 0,2 mol/L NaCl não ocorreu germinação dessa leguminosa.

Os resultados de massa seca das plantas obtidos aos 61 dias após o plantio mostraram que apenas o tratamento de 0,1 mol/L NaCl teve uma redução da média de sua massa seca. Dessa forma, esta leguminosa pode ser indicada para a recuperação de solos salinos com concentração de 0,05 mol/L NaCl ou menor, visto que altos teores de salinidade podem ocasionar a redução do tamanho das raízes e da taxa de germinação.

Considerando as análises dos microrganismos endofíticos, notou-se uma redução de fungos com a elevação dos tratamentos de NaCl, entretanto, as bactérias apresentaram maior resistência aos tratamentos e redução de sua riqueza.

Dessa forma, sugere-se a realização de pesquisas mais detalhadas com inoculação dos microrganismos encontrados nos tratamentos de 0,1 e 0,05 mol/L NaCl, pois podem auxiliar nas pesquisas sobre salinidade em solos e água.

Referências

ANDERSON, T. H. Physiological analysis of microbial communities in soil: applications and limitation. **Institut fur Bodenbiologie, Forschungsanstalt fur Landwirtschaft.** Braunschweig Germany, 1994.

BETHKE, C. P.; DREW, C. M. Stomatal and nonstomatal components to inhibition of photosynthesis in leaves of *capsicum annum* during progressive exposure to NaCl salinity. **Plant Physiology**. Department of Horticultural Science, Texas A&M University, College Station. v. 99, p. 219-226, 1992.

BOSCO, M. **Efeitos do cloreto de sódio sobre o desenvolvimento e absorção de nutrientes na cultura da berinjela**. 2006. 60 p. Dissertação de Mestrado – Curso de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

BOTELHO, M. J. CRUZ, G. A. V. **Metodologia Científica**. São Paulo: Pearson Education do Brasil, p.131, 2013.

CARPANEZZI, A. A. **Espécies para recuperação ambiental**. Embrapa Florestas, Colombo PR, p.43-53, 1998.

CASTANHEIRA, N. **Estatística aplicada a todos os níveis**. Inter Saberes, Curitiba, p.253, 2012.

CORDEIRO, G. **Salinidade e sodicidade dos solos agrícolas**. II curso sobre manejo de solo e água em propriedades agrícolas do trópico semiárido. Embrapa. Petrolina, PE, p.35, 1983.

DONOVAN, T. J.; DAY, A. D. Some effects of high salinity on germination and emergence of barley (*Hordeum vulgare* L. emend Lani.). **Agronomy Jornal**, v. 61, p.236-238, 1969.

DIAS, S.; BLANCO, F. **Efeito dos sais no Solo e na Planta**. INCTSal. Fortaleza, p.13, 2010.

GUEDES, A.; ACORSI, L.; MARTINS, T.; JANEIRO, V. **Estatística Descritiva**. 2016. Disponível em: <http://www.each.usp.br/rvicente/Guedes_etal_Estatistica_Descritiva.pdf>. Acesso em: 11 de janeiro de 2018.

LOPES, J. C.; MACEDO, C. M. P. Germinação de sementes de couve chinesa sob influência do teor de água, substrato e estresse e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 3, p.079-085, 2008.

MACHADO NETO, N. B.; CUSTÓDIO, C. C.; COSTA, P. R.; DONÁ, F. L. Deficiência hídrica induzida por diferentes agentes osmóticos na germinação e vigor de sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 1, p.142-148, 2006.

MAGUIRE, J. D. Speed germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and 104 vigor. **Crop Science**, v. 2, p.176-177, 1962.

MORAES, F.; MENEZES, L.; PASQUALLI, L. Comportamento de sementes de feijão sob diferentes potenciais osmóticos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 4, 2005.

MOTERLE, L. M; LOPES, P. C; BRACCINI, A. L; SCAPIM, C.A. Germinação de sementes e crescimento de plântulas de cultivares de milho-pipoca submetidas o estresse hídrico e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, p.169-176, 2006.

MUNNS, R. Genes and salt tolerance: bringing them together. **New Phytologist**, Australia .v. 167, n. 3, p.645-663, 2005.

MUNNS, R.; TERMAAT, A. Whole-plant responses to salinity. **Australian Journal of Plant Physiology**, Australia, v. 13, p.143-160, 1986.

NOGUEIRA, O.; OLIVEIRA, M.; MARTINS, S.; BERNARDES, O. Utilização de leguminosas para recuperação de áreas degradadas. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia v. 8, n. 14, 2012.

OLIVEIRA, A.; GUEDES, A.; GOMES, P.; BEZERRA, S.; LIMA, A.; OLIVEIRA, T. Interaction between water salinity and biostimulant in the initial growth of physic nut. **Revista Brasileira da engenharia agrícola ambiental**. Campina Grande, PB, v. 19, n. 3, 2015.

PERTEL, J. *et al.* **Efeito do estresse hídrico simulado com polietileno glicol na germinação de sementes de feijão**. Viçosa MG, 2003.

PINHEIRO, G.; ZANOTTI, F.; PAIVA, C.; LOPES, C.; GAI, T. Efeito do estresse salino em sementes e plântulas de feijão guandu. **Centro Científico Conhecer**, Espírito Santo. v. 9, n. 16, 2013.

RITZ, K.; DIGHTON, J.; GILLER, K. E. Beyond the Biomass. Wiley, Chichester, UK: **British Soil Science Society**, p. 67–76, 1994.

SANTOS, E. **Delineamentos de Metodologia Científica**. Loyola: São Paulo, 1992.

SANTOS, A.; CARNEIRO, T.; SANTOS, R.; COSTA, C.; CICERO, G.; NETO, S. Crescimento de leguminosas utilizadas na adubação verde em diferentes níveis de sais na água de irrigação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, Campina Grande, PB, v. 18, n. 12, p.1255–1261, 2014.

SARRUGE, J. R. Soluções nutritivas. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 1, n. 3, p. 231-233, 1975.

USP. **Biometeorologia de microorganismos: aspectos básicos da ação da temperatura sobre microrganismos**. 2016. Disponível em:<<http://www.dca.iag.usp.br/www/material/fgoncalv/biometeo/AULA%206.ppt>>. Acesso em: 17 de janeiro de 2018.

YUAN, B. C. Microbial biomass and activity in salt affected soils under arid conditions. **Applied Soil Ecology**, v. 35, n. 02, p. 319–328, 2007.