



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS CAMPINA GRANDE-PB
PRÓ-REITORIA DE PÓS GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

DANIELA DUARTE BARBOSA

**DESENVOLVIMENTO VEGETATIVO E PARÂMETROS
FISIOLÓGICOS EM GENÓTIPOS DE AMENDOIM SOB DÉFICIT
HÍDRICO E INOCULADOS COM RIZÓBIOS**

**CAMPINA GRANDE-PB
2016**

DANIELA DUARTE BARBOSA

**DESENVOLVIMENTO VEGETATIVO E PARÂMETROS FISIOLÓGICOS EM
GENÓTIPOS DE AMENDOIM SOB DÉFICIT HÍDRICO E INOCULADOS
COM RIZÓBIOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Estadual da Paraíba/Embrapa Algodão, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre (M.Sc.) em Ciências Agrárias.

Área de concentração: Biotecnologia e Melhoramento Genético.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Liziane Maria de Lima
Coorientador: Prof. Dr. Pedro Dantas Fernandes

**CAMPINA GRANDE – PB
2016**

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

B238d Barbosa, Daniela Duarte

Desenvolvimento vegetativo e parâmetros fisiológicos em genótipos de amendoim sob déficit hídrico e inoculados com rizóbios [manuscrito] / Daniela Duarte Barbosa. - 2016.
77 p. : il. color.

Digitado.

Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias) - Universidade Estadual da Paraíba, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, 2016.

"Orientação: Profa. Dr^a Liziane Maria de Lima, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa".

1. *Arachys hypogaea* L. 2. Déficit hídrico. 3. Rizóbios. 4. Enzimas antioxidantes. I. Título.

21. ed. CDD 631.521

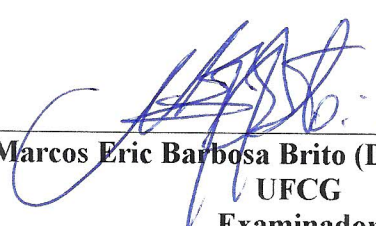
**DESENVOLVIMENTO VEGETATIVO E PARÂMETROS
FISIOLÓGICOS EM GENÓTIPOS DE AMENDOIM SOB DÉFICIT
HÍDRICO INOCULADOS COM RIZÓBIOS**

DANIELA DUARTE BARBOSA

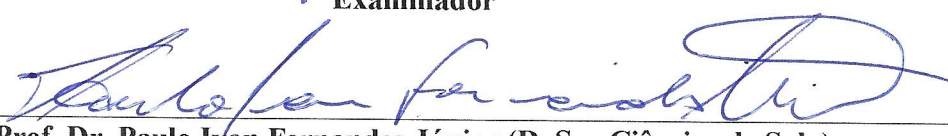
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Estadual da Paraíba/Embrapa Algodão, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre (M.Sc.) em Ciências Agrárias/Área de concentração: Biotecnologia e Melhoramento Genético.

Aprovada em 10 de março de 2016


Banca Examinadora:




Prof. Dr. Marcos Eric Barbosa Brito (D. Sc., Engenharia Agrícola)
UFCG
Examinador



Prof. Dr. Paulo Ivan Fernandes Júnior (D. Sc., Ciências de Solo)
Embrapa Semiárido
Examinador



Prof. Dr. Pedro Dantas Fernandes (D. Sc., Solos e Nutrição de Plantas)
UEPB
Co-orientador



Prof.ª Dr.ª Liziane Maria de Lima (D. Sc., Biologia Molecular)
Embrapa Algodão
Orientadora

*Ao Deus da minha vida.
Aos meus pais, Marina Duarte e Damião Floriano (in memoriam).
E a todos os demais familiares e amigos.*

Ofereço

*Ao grande amor da minha vida, que esteve sempre presente nos momentos tanto difíceis quanto de conquistas com sua paciência, compreensão e atenção...
Ao meu esposo Carlos Roberto...*

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, o Autor da Minha Fé, por estar viva, por iluminar meus passos, por sua proteção e orientação.

A minha mãe Marina Duarte, pelo carinho, amor, compreensão e todo esforço que me permitiram chegar até aqui.

Ao meu esposo Carlos Roberto pela presença constante em minha vida, sempre com seu amor, carinho e atenção.

A todos meus familiares e amigos, pela amizade e compreensão nos momentos em que abri mão de suas companhias para poder realizar meus trabalhos.

A minha orientadora Liziane Maria de Lima pela contribuição e orientação para a realização deste trabalho.

A grande amiga e irmã Samara de Lima Brito, que ganhei nessa caminhada, pela sua ajuda, apoio e auxílio.

Aos professores Pedro Dantas, Carlos Henrique e Paulo Ivan que ensinaram, ajudaram e contribuíram para a realização deste trabalho.

A todos do laboratório de Biotecnologia da Embrapa Algodão, em especial Valeska e Fabia pela força, ajuda e companheirismo.

A equipe do ECOLAB/UEPB, Janivam, Wellison e Rayssa que disponibilizaram um pouco do seu tempo para ajudar nas avaliações do experimento.

Ao Dr. Paulo Ivan da Embrapa Semiárido e ao Prof. Carlos Henrique por ceder as estirpes de rizóbios.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias (PPGCA) da UEPB/Embrapa Algodão e a UEPB, pela oportunidade de ampliar meus conhecimentos.

Aos colegas de curso, por todos os momentos compartilhados durante esta jornada, principalmente as “princesinhas das agrárias” e principalmente àquelas que além de colegas se tornaram irmãs.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de mestrado.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização do trabalho.

RESUMO

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é uma oleaginosa herbácea originária da América Latina e cultivada em várias regiões do Brasil, por sua grande capacidade de adaptação ambiental. Porém, alguns fatores ambientais bióticos e abióticos, como o estresse hídrico, afetam a capacidade de produção do amendoim, desencadeando impactos econômicos negativos, que variam dependendo da duração da estiagem e da fase fenológica das plantas. Nesse contexto, objetivou-se avaliar a interação de microrganismos fixadores de nitrogênio, como promotores de tolerância ao déficit hídrico em três genótipos de amendoim, avaliando-se parâmetros fisiológicos e de crescimento vegetativo. Foram usados três genótipos de amendoim, sendo duas cultivares (BRS Havana e CNPA 76 AM) e uma linhagem avançada (2012-4), os tratamentos foram formados a partir da inoculação de três isolados de rizóbio (SEMIA 6144, 123-10A e SEMIA 4077), uma fonte química nitrogenada (sulfato de amônia) e a testemunha sem nitrogênio e dois regimes hídricos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com fatorial de 3 x 5 x 2 com 6 repetições. Os dados obtidos foram analisados por meio do Programa estatístico SISVAR versão 5.6, os quais foram submetidos à análise de variância pelo teste T e a comparação de médias pelo de Teste de Tukey a 5% de significância. As variáveis de trocas gasosas foram afetadas pelo déficit hídrico e houve redução da altura de planta, massa seca da parte aérea, peso seco de nódulos e número de nódulos. O déficit hídrico reduziu também as trocas gasosas nos genótipos de amendoim, contudo, os rizóbios mitigaram os efeitos do déficit hídrico. Houve aumento no teor de prolina nas plantas sob restrição hídrica e as enzimas antioxidantes atuaram de acordo com as necessidades dos mecanismos de defesa das plantas. Os genótipos estudados foram tolerantes ao déficit hídrico na presença das estirpes 123-10A e SEMIA 6144, sendo que 123-10A foi mais a responsiva na maioria das variáveis analisadas.

Palavras-chave: *Arachis hypogaea* L 1. Déficit hídrico 2. Enzimas antioxidantes 3. Rizóbios 4.

ABSTRACT

Peanut (*Arachis hypogaea* L.) is a herbaceous oilseed original in Latin America and cultivated in many regions of Brazil due to great capacity for environmental adaptation. But some biotic and abiotic environmental factors such as water stress, affect the peanut production capacity, however negative economic impacts that vary depending on the duration of the drought and the phenological phase of the plants. In this context aimed to evaluate the interaction of nitrogen-fixing microorganisms, as promoters of tolerance to drought in three peanut genotypes, assessing physiological and vegetative growth parameters. We used three genotypes of peanut and two cultivars (BRS Havana and CNPA 76 AM) and an advanced line (2012-4), the treatments were formed from the inoculation of three strains of rhizobia (SEMIA 6144, 123-10A and SEMIA 4077) , a nitrogenous chemical source (ammonium sulfate) and without nitrogen witness and two water regimes. The experimental design was completely randomized with factorial 3 x 5 x 2 with 6 repetitions. Data were analyzed using the statistical program SISVAR version 5.6, which were submitted to variance analysis by T test and comparison of means by Tukey test at 5% significance. The variables of gas exchange were affected by drought and decreased the plant height, shoot dry weight, dry weight of nodules and number of nodes. The drought also reduced gas exchange in peanut genotypes, however, the rhizobia mitigated the effects of drought. There was an increase in proline content in plants under water stress and antioxidant enzymes acted in accordance with the needs of the plant defense mechanisms. The genotypes studied were tolerant to drought in the presence of strains 123-10A and SEMIA 6144, and 123-10A was more responsive in most of the variables analyzed.

Keywords: *Arachis hypogaea* L.1. Water stress 2. Antioxidant enzymes 3. Rhizobia 4.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Descrição dos genótipos de amendoim utilizados no experimento, Campina Grande-PB, 2016.....	28
Tabela 2. Características dos isolados de rizóbios, Campina Grande-PB, 2016.	29
Tabela 3. Características químicas do solo usado no enchimento dos vasos para cultivo dos genótipos de amendoim sob déficit hídrico e inoculados com rizóbios, Campina Grande, 2016.....	31
Tabela 4. Resumo da análise de variância para fotossíntese (A) ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), carbono interno (Ci) ($\mu\text{mol mol}^{-1}$), transpiração (E) ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (Gs) ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), eficiência instantânea da carboxilação (EiC) a partir da relação (E/Ci), eficiência do uso da água (EUA) relação entre (A/E), Campina Grande-PB, 2016.....	34
Tabela 5. Resumo da análise de variância para as variáveis de altura de planta (AP), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), número de nódulos (NN), massa seca de nódulos (MSN) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA), Campina Grande –PB, 2016.....	45
Tabela 6. Médias obtidas para as variáveis altura da planta (AP) (cm), massa seca da parte aérea (MSPA) (g), massa seca da raiz (MSR) (g), número de nódulos (NN), peso dos nódulos (MSN) (g), nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) (mg g^{-1}), para os genótipos CNPA 76 AM, BRS Havana e 2012-4, Campina Grande-PB, 2016.....	47
Tabela 7. Resumo da análise de variância para as enzimas superóxido dismutase (SOD) ($\text{U SOD min}^{-1} \text{mg proteína}^{-1}$), catalase (CAT) ($\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{mg proteína}^{-1}$) e ascorbato peroxidase (APX) ($\mu\text{mol de ASC min}^{-1} \text{mg proteína}^{-1}$)	

e o teor de prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) para os genótipos CNPA 76 AM, BRS Havana e 2012-4, Campina Grande-PB, 2016..... 53

Tabela 8. Médias obtidas para as variáveis superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), prolina e porcentagem para a redução da atividade enzimática em CEH – com estresse hídrico em relação ao SEH – sem estresse hídrico, para os genótipos CNPA 76 AM, BRS Havana e 2012-4, Campina Grande-PB, 2016..... 55

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Sementes dos genótipos de amendoim, CNPA 76 AM (A), BRS Havana (B) e 2012-4 (C)..... 28
- Figura 2. Fotossíntese líquida em folhas de plantas de amendoim submetidas a déficit hídrico e cultivadas na presença de rizóbios (SEMIA 6144, 123-10A e SEMIA 4077), manejos CN – com nitrogênio; SN – sem nitrogênio. Letra maiúscula para os regimes hídricos dentro do genótipo (regime hídrico; SE – sem estresse e CE – com estresse) e letra minúscula para o tratamento dentro do regime hídrico (Teste de Tukey, $p < 0,05$)..... 36
- Figura 3. Concentração interna de carbono em folhas de plantas de amendoim submetidas a déficit hídrico e cultivadas na presença de rizóbios (SEMIA 6144, 123-10A e SEMIA 4077), manejos CN – com nitrogênio; SN – sem nitrogênio. Letra maiúscula para os regimes hídricos dentro do genótipo (regime hídrico; SE – sem estresse e CE – com estresse) e letra minúscula para o tratamento dentro do regime hídrico (Teste de Tukey, $p < 0,05$)..... 38
- Figura 4. Condutância estomática em folhas de plantas de amendoim submetidas a déficit hídrico e cultivadas na presença de rizóbios (SEMIA 6144, 123-10A e SEMIA 4077, manejos CN – com nitrogênio; SN – sem nitrogênio. Letra maiúscula para os regimes hídricos dentro do genótipo (regime hídrico; SE – sem estresse e CE – com estresse) e letra minúscula para o tratamento dentro do regime hídrico (Teste de Tukey, $p < 0,05$)..... 39
- Figura 5. Transpiração em folhas de plantas de amendoim submetidas a déficit hídrico e cultivadas na presença de rizóbios (SEMIA 6144, 123-10A e SEMIA 4077), manejos CN – com nitrogênio; SN – sem nitrogênio. Letra maiúscula para os regimes hídricos dentro do genótipo (regime hídrico; SE – sem estresse e CE – com estresse) e letra minúscula para o tratamento dentro do regime hídrico (Teste de Tukey, $p < 0,05$)..... 41

Figura 6. Eficiência da carboxilação em folhas de plantas de amendoim submetidas a déficit hídrico e cultivadas na presença de rizóbios (SEMIA 6144, 123-10A e SEMIA 4077), manejos CN – com nitrogênio; SN – sem nitrogênio. Letra maiúscula para os regimes hídricos dentro do genótipo (regime hídrico; SE – sem estresse e CE – com estresse) e letra minúscula para o tratamento dentro do regime hídrico (Teste de Tukey, $p < 0,05$)..... 42

Figura 7. Eficiência do uso da água em folhas de plantas de amendoim submetidas a déficit hídrico e cultivadas na presença de rizóbios (SEMIA 6144, 123-10A e SEMIA 4077), manejos CN – com nitrogênio; SN – sem nitrogênio. Letra maiúscula para os regimes hídricos dentro do genótipo (regime hídrico; SE – sem estresse e CE – com estresse) e letra minúscula para o tratamento dentro do regime hídrico (Teste de Tukey, $p < 0,05$)..... 44

Figura 8. Cultivo de plantas do genótipo CNPA 76 AM em vasos e mantidas em casa de vegetação, com 10 DEH e inoculadas com: (A) SEMIA 6144, sem estresse hídrico; (B) 123-10A, sem estresse hídrico; (C) SEMIA 4077, sem estresse hídrico; (D) SEMIA 6144, com estresse hídrico; (E) 123-10A com estresse hídrico; (F) SEMIA 4077, com estresse hídrico..... 46

Figura 9. Cultivo de plantas do genótipo BRS Havana em vasos e mantidas em casa de vegetação, com 10 DEH e inoculadas com: (A) SEMIA 6144, sem estresse hídrico; (B) 123-10A, sem estresse hídrico; (C) SEMIA 4077, sem estresse hídrico; (D) SEMIA 6144, com estresse hídrico; (E) 123-10A com estresse hídrico; (F) SEMIA 4077, com estresse hídrico..... 48

Figura 10. Cultivo de plantas do genótipo 2012-4 em vasos e mantidas em casa de vegetação, com 10 DEH e inoculadas com: (A) SEMIA 6144, sem estresse hídrico; (B) 123-10A, sem estresse hídrico; (C) SEMIA 4077, sem estresse hídrico; (D) SEMIA 6144, com estresse hídrico; (E) 123-10A com estresse hídrico; (F) SEMIA 4077, com estresse hídrico..... 48

LISTA DE ABREVIATURAS

A – Taxa de assimilação de CO₂ (fotossíntese líquida)

AP – Altura de planta

APX – Ascorbato peroxidase

CAT – Catalase

CE – Com estresse

C_i – Concentração interna de carbono (CO₂)

CN – Com nitrogênio

DEH – Dias de estresse

DNA – Ácido desoxirribonucleico

E – Transpiração

E_iC – Eficiência instantânea da carboxilação

EROs – Espécies reativas de oxigênio

EUA – Eficiência do uso da água

FBN – Fixação biológica de nitrogênio

g_s – Condutância estomática

H₂O - Água

H₂O₂ – Peroxido de hidrogênio

MSPA – Massa seca da parte aérea

MSR – Massa seca da raiz

N – Nitrogênio

NN – Número de nódulos

O₂ – Oxigênio

¹O₂ - Oxigênio singlete

$O_2^{\cdot -}$ - Radical superóxido

OH^{\cdot} - Radical hidroxila

PN – Peso de nódulos

PSII – Fotossistema II

SE – Sem estresse

SN – Sem nitrogênio

SOD – Superóxido desmutase

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	OBJETIVOS	19
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	20
3.1	A cultura do amendoim e sua importância.....	20
3.2	Déficit hídrico em plantas de amendoim.....	21
3.3	Espécies reativas de oxigênio (EROs).....	22
3.4	Reações antioxidantes de plantas.....	23
3.5	Fixação biológica de nitrogênio (FBN).....	25
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	28
4.1	Isolados de rizóbios e dos genótipos de amendoim.....	28
4.2	Cultivo dos isolados de rizóbios.....	28
4.3	Implantação, condução e coleta do experimento.....	29
4.4	Trocas gasosas.....	30
4.5	Variáveis de crescimento vegetativo.....	32
4.6	Análise de nitrogênio	32
4.7	Atividade enzimática	32
4.8	Análises estatísticas	33
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1	Trocas gasosas.....	34
5.1.1	<i>Fotossíntese líquida.....</i>	<i>34</i>
5.1.2	<i>Concentração interna de carbono CO₂ (Ci).....</i>	<i>36</i>
5.1.3	<i>Condutância estomática (gs).....</i>	<i>38</i>
5.1.4	<i>Transpiração</i>	<i>40</i>
5.1.5	<i>Eficiência instantânea da carboxilação</i>	<i>41</i>
5.1.6	<i>Eficiência do uso da água</i>	<i>43</i>
5.2	Crescimento vegetativo.....	44
5.2.1	<i>Altura de planta (AP)</i>	<i>45</i>
5.2.2	<i>Massa seca da parte aérea (MSPA)</i>	<i>49</i>
5.2.3	<i>Massa seca da raiz (MSR)</i>	<i>50</i>
5.2.4	<i>Número de nódulos (NN)</i>	<i>51</i>
5.2.5	<i>Massa seca de nódulos (MSN)</i>	<i>51</i>

5.2.6	<i>Nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA)</i>	52
5.3	Atividade antioxidante e teor de prolina	53
5.3.1	<i>Atividade enzimática da SOD</i>	53
5.3.2	<i>Atividade enzimática da CAT</i>	56
5.3.3	<i>Atividade enzimática da APX</i>	56
5.3.4	<i>Teor de prolina</i>	58
6	CONCLUSÕES	60
	REFERÊNCIAS	61

1 INTRODUÇÃO

O amendoim é uma leguminosa com sementes ricas em óleo, é utilizado como fonte de alimento e na obtenção de produtos derivados utilizados para a indústria farmacêutica e cosmética, além de ser uma alternativa para os programas de bicompostível. É considerada a quarta oleaginosa mais cultivada no mundo; no Brasil seu cultivo é bastante difundido em estados das regiões Sul e Sudeste, sendo o estado de São Paulo o maior produtor, com aproximadamente 95% da produção nacional (CONAB, 2015).

Apesar de sua importância econômica, um dos fatores que limita a extensão do seu cultivo é o déficit hídrico, principalmente em regiões semiáridas, que possui períodos de secas prolongados. O déficit hídrico causa diversas alterações nas plantas, a exemplos de fisiológicas e bioquímicas, afetando, principalmente, as funções vitais das células, a partir da geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), que degradam lipídios, aminoácidos, ácidos nucleicos e a estrutura do DNA (FAROOQ et al., 2009; HUANG et al., 2013). Dentre as EROs mais comuns destacam-se o radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), oxigênio singlete (1O_2), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila (OH^{\cdot}). Todas estas geradas a partir do O_2 que é inofensivo em seu estado fundamental (SHARMA et al., 2012).

Para evitar esses danos, as plantas desenvolveram mecanismos de defesas celulares, capazes de mitigar as alterações provocadas em decorrência do estresse abiótico. Algumas enzimas do complexo antioxidativo são capazes de diminuir a ação das espécies reativas de oxigênio, esses mecanismos de defesa são ativados por sinalizadores de estresse. Dentre as enzimas antioxidantes ativadas na defesa destacam-se: superóxido dismutase, catalase, ascorbato peroxidase, entre outras. Existem ainda moléculas como açúcares complexos e outras como o aminoácido prolina, que também executam a função de defesa das plantas atuando como osmoprotetores quando estas encontram-se sob estresses bióticos e abióticos. Essas moléculas agem como agentes degradantes das EROs geradas a partir do início da sinalização do estresse (KIM e KWAK, 2010).

Por ser uma leguminosa, uma das características do amendoim é a interação simbiótica com bactérias de solo, das quais muitas são promotoras do crescimento vegetal (BOLONHEZI, 2013). Nesse contexto, tem se notado em vários estudos que a interação de leguminosas com microrganismos promotores de crescimento vegetal, tem sido uma

alternativa para minimizar danos celulares causados por estresses biótico e abiótico, a partir da produção de substâncias osmorreguladoras produzidas por esses organismos fixadores biológicos de nitrogênio (FURLAN et al., 2012; KAVAMURA et al., 2013; ISLAM et al., 2014).

Diante da importância econômica do amendoim para a indústria e da redução produtiva durante a estiagem, faz-se necessário estudar a interação de genótipos de amendoim com rizóbios a fim de identificar o genótipo e a estirpe mais responsiva aos efeitos do déficit hídrico.

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

- ✓ Avaliar genótipos de amendoim inoculados com rizóbios sob condições de déficit hídrico, através de avaliações fisiológicas e crescimento vegetativo.

2.2. Objetivos específicos

- ✓ Avaliar e identificar parâmetros fisiológicos em genótipos de amendoim inoculados com rizóbios em condições de déficit hídrico.
- ✓ Identificar o inoculante a base de rizóbios que melhor contribuiu para a tolerância dos genótipos de amendoim ao déficit hídrico.
- ✓ Estimar o desenvolvimento vegetativo dos genótipos de amendoim inoculados com rizóbios e submetidos ao déficit hídrico.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1. A cultura do amendoim e sua importância econômica

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é uma planta originária da América do Sul, é considerado uma das principais oleaginosas cultivadas no Brasil e no mundo. Atualmente é a quarta maior cultura entre as oleaginosas, sendo cultivada em mais de 100 países, com aproximadamente 45 milhões de toneladas, onde 67% da produção mundial concentra-se na China, Índia, Nigéria, Estados Unidos e Sudão (FAOSTAT, 2015; USDA, 2016). No Brasil, o amendoim é cultivado em dez estados brasileiros, dos quais, São Paulo é o maior produtor, com 95% da produção nacional, seguido por Rio Grande do Sul com 3% e Minas Gerais com 2%, totalizando cerca de 354 mil de toneladas (CONAB, 2015).

Pertencente à família fabaceae, o amendoim é uma planta alotetraplóide, que se reproduz quase exclusivamente por autogamia (SANTOS e NOGUEIRA, 2000), herbácea, ereta ou prostrada, anual, com ciclo entre 90 e 160 dias, atingindo altura da haste principal entre 50 a 60 cm (NOGUEIRA e TÁVORA, 2013). O teor de óleo presente nas sementes de amendoim é cerca de 40% a 50% e de 22% a 33% de proteína, ainda contém carboidratos, sais minerais e vitaminas E e do complexo B, constituindo-se num alimento altamente energético (585 calorias/100 g) (SILVEIRA et al., 2011), fazendo parte do grupo dos nove óleos mais consumidos no mundo, ocupando o sétimo lugar (CONAB, 2015).

A espécie *A. hypogaea* encontra-se subdividida em duas subespécies, *hypogaea* e *fastigiata*, as quais, ainda se dividem em seis variedades botânicas segundo o hábito de crescimento, *hypogaea* e *hirsuta* pertencentes a subespécie *hypogaea*, de hábito rasteiro e *fastigiata*, *vulgaris*, *aequatoriana* e *peruviana*, pertencentes a subespécie *fastigiata* de hábito ereto (NOGUEIRA e TÁVORA, 2013).

Valência, Spanish e Virgínia são os tipos comerciais, divididos de acordo com os grupos botânicos e descritos principalmente pelo hábito de crescimento. Valência e Spanish são representados pelas subespécies *fastigiata* e *hypogaea*, respectivamente, ambas possuem hábito de crescimento ereto ou semiereto, ciclo curto (90 a 100 dias) e haste principal com flores. As vagens do grupo Valência contêm entre duas e quatro sementes, já as vagens do grupo Spanish possuem duas sementes de tamanho pequeno a médio. Virgínia é o tipo representado por acessos da subespécie *hypogaea*, que tem em comum o hábito de crescimento rasteiro, semirasteiro e arbustivo, ciclo longo (120 a 140

dias), sem flores na haste principal e vagens com duas sementes (GODOY et al., 2005).

O amendoim é uma planta classificada como mesófila, seu metabolismo é de uma planta C3, porém, apresenta características de tolerância a seca por mostrar-se adaptada a redução hídrica. A transpiração da planta depende das condições ambientais, como temperatura e umidade atmosférica. O consumo de água pela cultura pode variar ao longo do ciclo: reduzido no início, aumentado durante a fase de reprodução e diminuído durante a fase final (NOGUEIRA e TÁVORA, 2013).

3.2. Déficit hídrico em plantas de amendoim

O estresse hídrico é um dos fatores abióticos que mais afeta a cultura do amendoim, apesar de sua adaptação a seca, durante os períodos de seca prolongada em ambientes semiáridos como no Nordeste brasileiro, esses fatores podem provocar alterações fisiológicas e bioquímicas severas, as quais se tornam responsáveis por perdas na produção, principalmente nessas regiões. As alterações envolvem vários mecanismos fisiológicos, bioquímicos e moleculares da planta (FAROOQ et al., 2009; RIBEIRO, 2010).

Dentre as alterações fisiológicas na planta e como uma defesa às condições de estresse, destacam-se: diminuição da taxa fotossintética, fechamento estomático para redução da perda de água por evaporação e diminuição da absorção de CO₂ a nível celular (TAIZ e ZEIGER, 2006; NOGUEIRA et al., 2006). Em níveis morfológicos, o estresse hídrico provoca redução da área foliar, número de folhas, altura da planta e massa seca de folhas e caules das plantas (CORREIA e NOGUEIRA, 2004).

A redução de água no solo e a diminuição da umidade do ar estão diretamente ligados ao estresse hídrico, pois afetam a transpiração causando a perda de água pela abertura estomática, como defesa a planta fecha os estômatos, reduzindo a taxa de assimilação de CO₂, isso reduz o crescimento da planta como forma de economizar água e energia (PIMENTEL, 2004; MAFAKHERI et al., 2010; SONGSRI et al., 2013). O acúmulo de osmolitos compatíveis é uma estratégia de defesa para evitar ao máximo a perda de água na planta, esses osmolitos são açúcares, aminoácidos, ácidos orgânicos, proteínas e íons com função de manter e regular a turgescência celular, de maneira que o potencial hídrico dentro da célula seja mais negativo em relação ao solo e ao ar para, assim, evitar que a planta desidrate completamente (PADMAVATHI e RAO, 2013)

As alterações estimulam a produção de EROs, que funcionam como sinalizadores celulares contra o estresse, quando em níveis normais, porém, quando há um aumento desses níveis, as espécies reativas causam danos celulares irreversíveis. As alterações bioquímicas, genéticas e moleculares, provocadas pelas EROs, acarretam prejuízos irreparáveis à maquinaria celular dos vegetais, que se encontram submetidos a tais condições abióticas. Essas alterações afetam lipídios, proteínas, ácidos nucleicos, glicídios e conseqüentemente levam a morte celular (KIM e KWAK, 2010).

3.3. Espécies reativas de oxigênio (EROs)

Sob estresse biótico e abiótico as plantas sofrem alterações fisiológicas e bioquímicas, o que favorece a produção de EROs nas plantas, estas espécies são altamente reativas e tóxicas causando danos a proteínas, lipídios, carboidratos e ao DNA. As EROs compreendem tanto a forma de radicais livres ($O_2^{\cdot-}$ radical superóxido e OH^{\cdot} radical hidroxila) quanto formas não radicais (H_2O_2 peróxido de hidrogênio e 1O_2 oxigênio singlete). Em cloroplastos, os fotossistemas I e II são os principais locais de produção das EROs, mas também são sintetizadas em outros locais a exemplo das mitocôndrias, em seu complexo I, na ubiquinona e no complexo III da cadeia transportadora de elétrons (SOARES e MACHADO, 2007; BARBOSA, 2014).

Em condições ambientais normais, a produção das EROs está diretamente ligada a interação planta-estresse e desempenha um papel importante na sinalização e regulação da transdução de sinal quando a planta está sob estresse biótico ou abiótico, ou seja, as EROs em baixas quantidades, fazem parte da primeira linha de defesa contra estresses ambientais como sinalizadoras do estresse, porém, quando essa quantidade se eleva, as EROs tornam-se prejudiciais ao metabolismo celular vegetal (NANDA et al., 2010).

O radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) é formado durante o transporte de elétrons na fotossíntese e na função do metabolismo de espécies reativas de oxigênio. O superóxido é uma espécie reativa de oxigênio, formado por redução de moléculas de oxigênio por um único elétron. Vários processos podem levar à formação de superóxido, mas a cadeia transportadora de elétrons e os processos respiratórios nas mitocôndrias, assim como os fotossintéticos nos cloroplastos são as principais fontes de produção desse radical. A enzima superóxido dismutase (SOD) catalisa a dismutação rápida do superóxido (PILON et al., 2011).

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é obtido a partir da redução univalente de O_2 , produzindo o peróxido de hidrogênio H_2O_2 , que é reativo e tem relativamente semi-vida de 1 μs , contudo, em excesso nas células das plantas causa o estresse oxidativo, durante estresses bióticos provocados por patógenos e/ou herbívoros e abióticos, como salinidade, déficit hídrico e altas temperaturas, entre outros (GRATÃO, 2004). O H_2O_2 pode inativar enzimas por oxidação, no entanto pode agir como um regulador chave em uma ampla variedade de processos, tais como senescência foliar, fotorrespiração, fotossíntese, movimento dos estômatos, ciclo celular, crescimento e desenvolvimento em geral (MITTLER et al., 2004; PENG et al., 2005; BRIGHT et al., 2006).

O radical hidroxila (OH^\bullet), é altamente reativo e oxidante, de vida curta, desempenha um papel importante na degradação de compostos orgânicos voláteis. O principal alvo da ação do radical hidroxila é a molécula de DNA que sofre danos nas suas bases, levando à quebra da dupla cadeia e os ácidos graxos insaturados que sofrem peroxidação (DIZDAROGLU et al., 2012; TARABORRELLI et al., 2012).

O oxigênio singlete (1O_2) é um subproduto natural da fotossíntese, possui efeito prejudicial em todo o aparato fotossintético. A disponibilidade limitada de CO_2 provocada pelo fechamento estomático durante vários estresses ambientais, como salinidade, secas e metais tóxicos, favorece a formação do 1O_2 . Seu tempo de vida no interior da célula dura cerca de 3 μs ou menos (HACKBARTH et al., 2010). Estudos revelam que mesmo em condições de pouca luz, o 1O_2 é sintetizado, principalmente no PSII podendo ser detectado em outras localizações estando até mesmo no citosol, sendo que mudanças ambientais súbitas elevam significativamente seu nível de produção desencadeando danos celulares quando em alta quantidade (BUCHERT et al., 2010).

3.4. Reações antioxidantes de plantas

Em condições de estresse hídrico, as plantas ativam mecanismos envolvendo enzimas, açúcares e aminoácidos responsáveis por gerar uma série de respostas antioxidativas contra as EROs. Entre as principais enzimas destacam-se: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e prolina, que são super ou sub regulados para atenuar os efeitos degradantes do estresse (MAIA et al., 2007; MARQUES et al., 2010; MARIN et al., 2010).

A SOD é um metabólito importante para defender as plantas contra os estresses ambientais, agindo na degradação do radical superóxido, converte O_2^- em H_2O_2 , que em

seguida, é convertido de H_2O_2 para H_2O pela APX, por meio da oxidação do ácido ascórbico ou pela enzima CAT (GARA et al., 2010; LIN et al., 2011).

A série de eventos envolvem SOD, CAT e APX por serem enzimas antioxidativas doadoras de elétrons que promovem a redução do H_2O_2 (GRATÃO, 2004). A prolina possui ação osmorreguladora nas células, é um aminoácido sintetizado a partir do glutamato, atua na planta mantendo a turgescência celular, estabilizando proteínas e substâncias essenciais ao metabolismo vegetal (QUEIROZ, 2006).

A CAT é uma das principais enzimas antioxidantes, presente em todos os organismos aeróbios. É responsável por catalisar H_2O_2 em água e oxigênio nas células quando estas são expostas ao estresse ambiental. A CAT está localizada nos principais locais de produção de H_2O_2 na célula, como; peroxissomos, mitocôndrias, cloroplastos e no citosol das plantas (SAED-MOUCHESHI et al., 2014).

A APX é uma enzima antioxidativa e pode ser encontrada no citosol, mitocôndrias, peroxissomos, cloroplastos (no estroma ligadas às membranas dos tilacóides) e parede celular (FOYER e NOCTOR, 2011). A APX exige o ácido ascórbico como redutor e tem alta afinidade pelo H_2O_2 , permitindo a eliminação do mesmo em baixas concentrações (LOCATO et al., 2010; SHARMA et al., 2012). Nos cloroplastos e mitocôndrias, a APX atua no ciclo ascorbato-glutationa, no qual o H_2O_2 formado pela ação da SOD, é reduzido pelo ascorbato (LOCATO et al., 2010).

A capacidade de acúmulo de solutos compatíveis é uma resposta comum dos organismos quando submetidos as condições adversas (EL-BASHITI et al., 2005; HONGBO et al., 2006). Os vegetais superiores sob condições de estresses bióticos e abióticos acumulam açúcares, prolina livre, ácidos orgânicos, íons, entre outros solutos (BARTELS e SUNKAR, 2005). Estes solutos são moléculas ou íons atóxicos que não interferem no metabolismo do vegetal, acumulando-se principalmente no citoplasma, onde têm função de manter a turgescência celular, além de estabilizar proteínas e estruturas celulares nas condições ambientais adversas (BRAY et al., 2001; BARTELS e SUNKAR, 2005).

Muitos trabalhos evidenciam que o acúmulo da prolina e de açúcares como a trealose constitui-se em um critério para estudos de tolerância à seca, salinidade, altas temperaturas e outros fatores bióticos e abióticos que afetam as plantas, sendo esses osmoprotetores utilizados como indicadores bioquímico-fisiológicos de estresse hídrico e outros estresses (NEPOMUCENO et al., 2001; EL-BASHITI et al., 2005; YAMADA et al., 2005; BIDOIA et al., 2006; HONGBO et al., 2006; MARIN et al., 2006).

3.5. Fixação biológica de nitrogênio (FBN)

Há alguns anos estudos têm demonstrado que microrganismos simbiotes com plantas, FBN, podem promover benefícios que permitem o desenvolvimento mútuo de ambos os organismos, onde bactérias associadas a vegetais influenciam na fixação de nitrogênio. O nitrogênio é um elemento essencial para as plantas, fazendo parte da constituição estrutural de aminoácidos, proteínas e ácidos nucleicos. Contudo, apesar de sua importância para o metabolismo celular vegetal, o nitrogênio atmosférico não é assimilável por alguns grupos de vegetais, a exemplo das leguminosas e gramíneas, sendo necessário uma fonte externa para suprir a necessidade da planta. Assim, as bactérias fixadoras de nitrogênio promovem o acesso do nitrogênio para as plantas, a partir de compostos obtidos através da quebra do nitrogênio (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Além de proporcionar através dessa interação aumento da superfície radicular de absorção de nutrientes, com o aumento da tolerância ao estresse ambiental (MENESES et al., 2011; FOLLI-PEREIRA et al., 2012; SOUZA, 2013).

As bactérias ainda podem contribuir como promotoras do crescimento de plantas, favorecendo o aumento da solubilização e absorção de nutrientes, produção de reguladores de crescimento vegetal como fitormônios, podem causar a supressão de patógenos a partir da produção de sideróforos ou antibióticos evitando as doenças de plantas (KUSS et al., 2007) e ainda, promovem a tolerância a estresses ambientais através da produção de biofilme, o qual é caracterizado por formar uma matriz composta de colônias de bactérias constituídas por carboidratos extracelulares e proteínas que agem como uma barreira de proteção natural contra a ação de patógenos, e contra a desidratação causada por estresses ambientais (KACI et al., 2005; BRANDA et al., 2006; KAVAMURA et al., 2013). Alguns microrganismos são capazes de sobreviver em condições ambientais adversas graças a capacidade de adaptação ao meio através de alteração na composição lipídica da membrana celular (PAULUCCI et al., 2015).

A FBN tem participação importante na interação planta-simbionte, uma vez que, o nitrogênio é um elemento essencial a vida, pois é parte constituinte de várias moléculas biológicas, tais como: aminoácidos, clorofila, bases nitrogenadas do RNA e DNA entre outras. Poucos são os seres que possuem intrinsecamente a enzima nitrogenase, responsável pela redução do N_2 para a forma assimilável de NH_3 , uma alternativa à fixação de nitrogênio é a adubação nitrogenada a partir de fertilizantes nitrogenados produzidos industrialmente pelo sistema Haber-Bosch, mas esse método requer altas

temperaturas e pressão elevada, o que exige alto custo e gasto de energia (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

Bactérias do solo também chamadas de rizóbios e pertencentes aos gêneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Sinorhizobium* e *Photorhizobium* (EPSTEIN e BLOOM, 2006) são exemplos de promotoras do crescimento, que ajudam algumas espécies de planta como gramíneas e fabáceas a fixarem nitrogênio e tolerarem as condições ambientais adversas, como os estresses bióticos e abióticos, a partir do seu desempenho junto ao desenvolvimento e metabolismo vegetal, por meio da produção e liberação de osmorreguladores para as plantas (MARCOS et al., 2016).

A interação dos rizóbios com as plantas hospedeiras se dá graças à formação dos nódulos, os quais são como novos órgãos formados por células radiculares infectadas com os bacteróides, que são a forma endo-simbiótica da bactéria e, dentro dessa formação acontece a fixação de nitrogênio. O que define a formação nodular de uma bactéria é a expressão dos genes *Nod*, pois a partir deles os microrganismos dispõem dos mecanismos necessários à infecção, permitindo a penetração dos bacterióides na raiz da planta para formar os nódulos a partir do cordão de infecção (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006; SANTOS e REIS, 2008).

O amendoim é uma espécie capaz de nodular com uma diversidade de espécies de rizóbios nativas do solo pertencentes ao grupo miscelânea caupi. A inoculação com estirpes selecionadas é capaz de aumentar a efetividade da simbiose e melhorar o rendimento produtivo do amendoim. Contudo, a seleção de uma simbiose eficiente é dependente do conhecimento da variabilidade genética do macro e do microsimbionte (BORGES, 2006; BORGES et al., 2007; HOFFMAN et al., 2007; SANTOS et al., 2007a; SANTOS et al., 2007b).

A infecção dos rizóbios no gênero *Arachis*, ocorre a partir da penetração da bactéria na raiz, através de fissuras na epiderme da mesma, não havendo, portanto, a formação do cordão de infecção, característico da nodulação de bactérias em outras espécies de leguminosas (CHANDLER, 1978). O nódulo é considerado um órgão da planta, formado a partir da simbiose entre a planta e o rizóbio, contudo, a efetividade dos nódulos só é possível se existir um baixo nível do oxigênio, uma vez que, a enzima nitrogenase, responsável pela FBN é sensível ao O₂ (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

Atualmente existem no mercado dois inoculantes de *Bradyrhizobium* sp. indicados pelo MAPA para o gênero *Arachis*, um para *A. hypogaea*, o amendoim cultivado, o inoculante SEMIA 6144, e o outro para *A. pintoi* o amendoim forrageiro, o SEMIA 6439.

Para outras culturas de importância econômica como a soja *Glycine max* existem quatro inoculantes registrados, dois da espécie *B. japonicum* e dois da espécie *B. elkanii* (MAPA, 2011).

A seleção de genótipos tolerantes a seca, juntamente com a seleção de inoculantes promotores de crescimento, é uma alternativa aos efeitos negativos do estresse hídrico. Porém para se chegar à seleção de tais genótipos, se faz necessário estudos fisiológicos e de crescimento vegetativo em diversos genótipos de amendoim em condições de déficit hídrico, a fim de identificar o genótipo mais tolerante em simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Isolados de rizóbios e genótipos de amendoim

Foram utilizados três genótipos de amendoim advindos do programa de melhoramento genético da Embrapa Algodão (Tabela 1), sendo duas cultivares (BRS Havana e CNPA 76 AM) e uma linhagem avançada (2012-4) (Figura 1), e três isolados de rizóbios (Tabela 2), sendo um cedido pela Universidade Estadual da Paraíba (SEMIA 4077) pertencente a Embrapa Agrobiologia, um pela Embrapa Semiárido (123-10A) e o outro BR 1436A (SEMIA 6144) recomendado pelo MAPA (2011).

Tabela 1. Descrição dos genótipos de amendoim utilizados no experimento, Campina Grande-PB, 2016.

Características dos genótipos				
Genótipo	Porte	Ciclo	Origem	Espécie
BRS Havana	Ereto	100 dias	Brasil	<i>Arachis hypogaea</i>
CNPA 76 AM	Ereto	100 dias	África	<i>Arachis hypogaea</i>
2012-4	Ereto	120 dias	Brasil	<i>Arachis hypogaea</i>



Figura 1. Sementes dos genótipos de amendoim CNPA 76 AM (A), BRS Havana (B) e 2012-4 (C).

4.2. Cultivo dos isolados de rizóbios

As estirpes de rizóbios foram cultivadas em meio líquido *Yeast Extract Malt* (YEM) (glicose 1%, peptona 0,5%, malte 0,3%, extrato de levedura 0,3%) à 28°C, sob

agitação (150 rpm), por 7 dias até o final da fase exponencial de crescimento das bactérias quando se tinha $1,0 \times 10^9$ UFC/mL. Após o crescimento as bactérias, foram realizadas três inoculações de 1 mL/semente ou planta, utilizando pipeta automática: a primeira no ato da semeadura, a segunda com 7 dias após a semeadura e a última com 14 dias de semeadas as sementes.

Tabela 2. Características dos isolados de rizóbios, Campina Grande-PB, 2016.

Isolado	Gênero	Instituição	Crescimento	Referência
SEMIA 6144 BR 1436A	<i>Bradyrhizobium</i>	IAC	Lento	MAPA (2011)
123-10A	<i>Bradyrhizobium</i>	Embrapa Semiárido	Lento	Cunha et al. (2013)
SEMIA 4077 BR 322	<i>Rhizobium</i> <i>tropici</i>	Embrapa Agrobiologia	Rápido	MAPA (2011)

4.3. Implantação, condução e coleta do experimento

O experimento foi conduzido no período de janeiro a fevereiro de 2014 em casa de vegetação da Embrapa Algodão situada na cidade de Campina Grande-PB (07°13'S; 53°31'W). Utilizou-se vasos de 49 cm de diâmetro por 21 cm de profundidade, com capacidade para 32 L, os vasos foram furados na parte inferior para drenar a água excedente da irrigação e preenchidos manualmente com solo franco arenoso. Anteriormente o solo foi analisado no Laboratório de Solos e Nutrição de Plantas da Embrapa Algodão, pelo método descrito por Silva (2009) (Tabela 3), sendo corrigido de acordo com a análise de solo, para tal aplicou-se 9 mg de superfosfato simples e 2 mg de cloreto de potássio/vaso, antes da semeadura, para o tratamento com nitrogênio, foi adicionado ao solo 1 mg de sulfato de amônio para cada vaso destinado ao tratamento com nitrogênio.

As sementes foram previamente desinfestadas com etanol puro por 30 segundos, hipoclorito de sódio (NaClO 1%) por 3 minutos, seguido de 10 lavagens sucessivas com água destilada para retirada de quaisquer tipos de resíduos (VICENT, 1970). Os tratamentos foram caracterizados em: (i) manejo sem nitrogênio (controle absoluto); (ii) manejo com nitrogênio (sulfato de amônio) e (iii) manejo com inoculante a base de

rizóbios. Após 10 dias da germinação foi realizado o desbaste, deixando apenas duas plantas por vaso. Vinte dias após a germinação, as plantas foram submetidas a restrição hídrica por 10 dias, para avaliar os efeitos do déficit hídrico. Nesse período foram irrigadas apenas as plantas controle mantendo-se a umidade próxima a capacidade de campo com irrigação abundante e as plantas sob restrição hídrica não foram irrigadas.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) com o fatorial de 3 x 2 x 5, com seis repetições, sendo distribuídos da seguinte forma; três genótipos de amendoim (CNPA 76 AM, BRS Havana e 2012-4), três estirpes de rizóbios, a base de *Rhizobium* (SEMIA 4077) e a base de *Bradyrhizobium* (SEMIA 6144 e 123-10A e), um manejo com nitrogênio (sulfato de amônia) e outro sem nitrogênio, e dois regimes hídricos (com estresse e sem estresse).

4.4. Trocas gasosas

Para a avaliação dos mecanismos fisiológicos de trocas gasosas, plantas de amendoim foram submetidas a déficit hídrico. A avaliação deu-se no período da manhã entre 9:00 e 11:00 horas aos 10 dias de déficit hídrico (30 dias após emergência), utilizando o equipamento utilizado foi IRGA (Infra Red Gas Analyzer) um analisador portátil da fotossíntese (modelo LCpro-SD), sem fonte artificial de carbono e com fonte luminosa artificial de 1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{m}^{-1}$, com o qual foram mensurados os parâmetros: taxa de assimilação de CO_2 (A) fotossíntese líquida, concentração interna de CO_2 (C_i), condutância estomática (g_s) e transpiração (E), a partir desses dados calculou-se a eficiência da instantânea da carboxilação (E_iC) realizada a partir dos resultados entre A e C_i (A/C_i) e a eficiência do uso da água (EUA) a partir da relação entre A e E (A/E) (MAGALHÃES FILHO et al., 2008).

Tabela 3. Características químicas do solo usado no enchimento dos vasos para cultivo dos genótipos de amendoim sob déficit hídrico e inoculados com rizóbios, Campina Grande, 2016.

Análise de fertilidade de solo												
Descrição	pH (H₂O)	Complexo Sortivo (mmolc/dm³)							%	mmolc/dm³	mg/dm³	g/kg
	1:2,5	Ca⁺²	Mg⁺²	Na⁺	K⁺	S	H+Al	T	V	Al⁺³	P	M.O.
Amostra	6,2	14,0	4,5	ND	0,1	18,6	10,3	28,4	64,3	ND	5,6	3,3

ND – não detectado. As análises de sódio (Na) e potássio (K) foram realizadas na UFCG.

4.5. Variáveis de crescimento vegetativo

Foram avaliadas as variáveis de crescimento: com o auxílio de uma régua foi realizada a altura da planta (AP) (cm) medindo-se desde a base até o ápice da haste principal da planta; para o peso da massa seca da parte aérea (MSPA) (g) e a massa seca da raiz (MSR) (g), o material foi seco em estufa com circulação de ar forçada a temperatura de 65 °C, durante 72 horas até atingir peso constante, após a secagem o material foi pesado em balança de precisão; para o número de nódulos (NN) os mesmos presentes nas raízes foram retirados e contados e para a massa seca de nódulos (MSN) (g) os nódulos após secagem foram pesados em balança de precisão.

4.6. Análise de nitrogênio

A análise de nitrogênio total foi baseada no método de digestão sulfúrica desenvolvido por Kjeldahl descrito por Bezerra Neto e Barreto (2011), a parte aérea das plantas foi seca em estufa de circulação de ar forçada a temperatura de 65 °C por 72 horas e depois foi moído em moinho. Uma alíquota de material vegetal seco (2 mg), 50 mg de sulfato de sódio, 0,5 mg sulfato de cobre a 5% e 5 mL de ácido sulfúrico foram misturados para a pré-digestão a frio em temperatura ambiente durante 12 horas, em seguida a solução foi aquecida em um bloco digestor a 350 °C até que toda matéria orgânica fosse dissolvida e a solução ficasse clara. Para a quantificação do nitrogênio foi utilizado 1 mL do extrato digerido em balão volumétrico de 50 mL contendo 40 mL de água deionizada, 1 mL de hidróxido de sódio a 10%, 1 mL de silicato de sódio a 10% e 2 mL do reagente de Nessler, o volume foi completado com água deionizada para 50 mL. A leitura foi realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 410 nm. A partir do teor de nitrogênio foi calculado o nitrogênio acumulado na parte aérea, multiplicando o teor de nitrogênio pela massa seca da parte aérea, de acordo com Alcantara et al., (2014).

4.7. Atividade enzimática

Para a extração proteica, foram utilizados 0,2 g de folhas coletadas ao término do experimento e acondicionada a -80 °C, maceradas em material congelado a -80 °C e adicionados 3 mL de tampão fosfato de potássio 0,1 M, pH 7,0, contendo EDTA 100 mM, L-ácido ascórbico 1 mM e 4% de polivinilpirrolidona (PVP). O teor proteico foi

quantificado pelo método de Bradford (1976) em espectrofotômetro no comprimento de onda de 595 nm e utilizados nos ensaios de análises enzimáticas.

A atividade enzimática da SOD foi determinada como descrito por Bulbovas et al. (2005), onde foram utilizados 40 µL de extrato proteico foliar, 1,5 mL de tampão fosfato de potássio 100 mM pH 7,8, contendo EDTA 1 mM, metionina 13 mM, azul p-nitrotriazólio (NBT) 75 mM e 460 µL de riboflavina 1 mM, a solução resultante foi exposta a luz fluorescente (75 W) por 15 minutos e analisada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 560 nm.

Para determinar a atividade da APX, alíquotas de 100 µL do extrato proteico foliar foram adicionadas a 2,9 mL do tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 6,0, ácido ascórbico 5 mM, 200 µL de H₂O₂ 4 mM e analisada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 290 nm com base no método de Nakano e Asada (1981).

A atividade da CAT foi determinada a partir de 100 µL do extrato proteico foliar misturado a 2,9 mL do tampão fosfato de potássio 100 mM pH 7,0 contendo H₂O₂, 40 mM, de acordo com Azevedo et al. (1998). A leitura foi realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 240 nm.

Para a determinação do teor de prolina livre foi utilizada a metodologia descrita por Bates et al. (1973). Inicialmente, foi preparado em aquecimento: 1,25 g de ninhidrina ácida, 30 mL de ácido acético glacial e 20 mL de ácido fosfórico 6 M, sob agitação, até ser dissolvido e a solução armazenada a 4 °C por até 24 horas aproximadamente. Uma amostra de folha (0,5 g) foi homogeneizada e 3 mL de ácido sulfossalicílico a 3% foram adicionados, em seguida a mistura foi centrifugada a 2000 giros em temperatura ambiente. Uma alíquota de 500 µL do sobrenadante foi utilizado para reagir com 500 µL de ninhidrina ácida e 500 µL de ácido acético glacial em um tubo de ensaio hermeticamente fechado e aquecido durante 1 hora a 100 °C e em seguida resfriada em gelo. A leitura procedeu-se adicionando 1 mL de tolueno para suspender o material orgânico o qual foi avaliado em espectrofotômetro no comprimento de onda de 520 nm.

4.8. Análises estatísticas

Os dados coletados foram analisados usando o programa estatístico SISVAR versão 5.6 (FERREIRA, 2011), os quais foram submetidos à análise de variância pelo teste F e comparação de médias pelo Teste de Tukey com 5% de significância.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Trocas gasosas

Para as variáveis de trocas gasosas houve diferença significativa a $p < 0,01$ pelo teste de Tukey.

Tabela 4. Resumo da análise de variância para fotossíntese (A) ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), carbono interno (Ci) ($\mu\text{mol mol}^{-1}$), transpiração (E) ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (Gs) ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), eficiência instantânea da carboxilação (EiC) a partir da relação (E/Ci), eficiência do uso da água (EUA) relação entre (A/E), Campina Grande-PB, 2016.

Fonte de variação	GL	Quadrado médio					
		A	Ci	E	gs	EiC	EUA
T	4	184,7823**	909,2055**	6,2980**	0,0348**	0,0109**	0,4845**
RH	1	185,6460**	2381,8777**	0,7507ns	0,0947**	0,0048**	0,6917**
T x RH	4	211,5240**	29,6833**	14,6935**	0,0265**	0,0118**	1,2597**
Resíduo	20	5,0995	183,2444	0,4846	0,0005	0,0002	0,0556
CV (%)		24,27	9,71	25,15	25,06	21,94	13,01
Média		9,30	139,43	2,7677	0,09	0,06	1,81

ns- não significativo; **, * - significativo a 1% e 5% de probabilidade pelo teste F. T- Tratamento; RH – Regime hídrico.

5.1.1. Fotossíntese líquida

Os genótipos CNPA 76 AM, BRS havana e 2012-4 estudados sob condição de déficit hídrico e inoculados com estirpes de rizóbios, sofreram redução da taxa fotossintética (Figura 2). Isso era esperado, pois sob déficit hídrico moderado a fotossíntese foliar é afetada e conforme o estresse avança os efeitos são mais notórios (TAIZ e ZEIGER, 2006; AZEVEDO NETO et al., 2010).

Além disso, outros fatores como a umidade relativa do ar, temperatura e radiação podem influenciar no fechamento estomático, e este, por sua vez influenciar diretamente processos essenciais para a sobrevivência da planta, como a respiração, transpiração e fotossíntese (PIMENTEL, 2004; SCHOCK et al., 2014).

Considerando que os tratamentos inoculados com rizóbios poderiam interferir positivamente na taxa fotossintética das plantas de amendoim sob déficit hídrico,

observou-se que o tratamento com a estirpe SEMIA 6144, houve menor redução da taxa fotossintética nos genótipos BRS Havana e 2012-4 (Figura 2). A estirpe 123-10A (Figura 2) no genótipo 2012-4 também foi um dos tratamentos em que a redução da fotossíntese líquida foi menor, enquanto que, a estirpe SEMIA 4077, foi a menos eficiente dentre as estirpes, na redução da taxa fotossintética nos três genótipos sob déficit hídrico. Houve também menor redução da taxa fotossintética em CNPA 76 AM no tratamento sem nitrogênio.

É sabido que a taxa fotossintética de plantas sob déficit hídrico, diminui com o avançar do período redução hídrica (PADMAVATHI et al., 2013), isso foi observado neste trabalho, pois em geral, a fotossíntese diminuiu em todos os tratamentos sob déficit hídrico, ao final do período de dez dias, onde as plantas submetidas ao estresse não foram irrigadas. Essa redução da taxa fotossintética também é decorrente da redução da g_s , que também diminuiu, pois, os estômatos tendem ao fechamento conforme a falta de água torna-se acentuada, para evitar ao máximo a perda de água pela transpiração.

O fechamento estomático também provoca a redução da absorção de carbono, deixando de ser assimilado para a fotossíntese, afetando a mesma. Assim, como no presente estudo, Kalariya et al. (2013), também observaram em genótipos de amendoim submetidos ao déficit hídrico a redução da fotossíntese líquida, seguida da redução da g_s e do carbono interno. Porém, nos tratamentos inoculados com rizóbios, a redução menos acentuada. O que pode ser considerado um efeito positivo das estirpes por serem capazes de promover a produção de osmorreguladores e atenuar o efeito do estresse (CHANG et al., 2007; KAVAMURA et al., 2013).

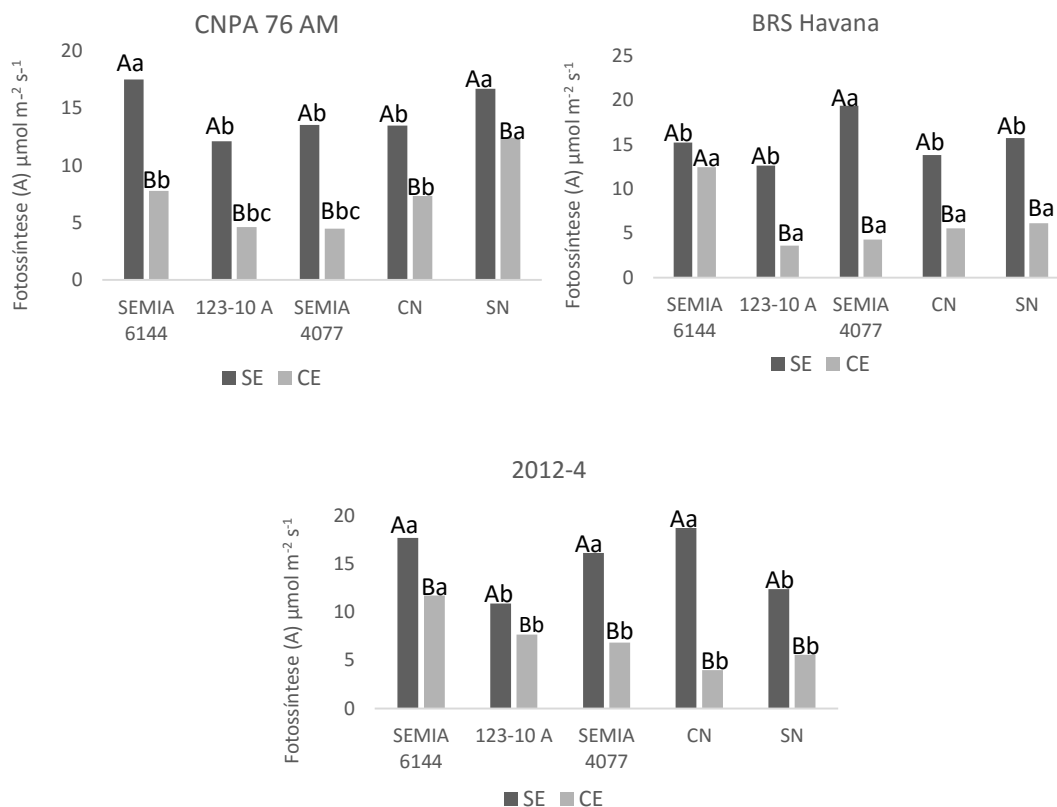


Figura 2. Fotossíntese líquida em folhas de plantas de amendoim submetidas a déficit hídrico e cultivadas na presença de rizóbios (SEMIA 6144, 123-10A e SEMIA 4077). Manejos: CN – com nitrogênio; SN – sem nitrogênio. Letras maiúsculas para os regimes hídricos dentro do genótipo (regime hídrico: SE – sem estresse e CE – com estresse) e letras minúsculas para o tratamento dentro do regime hídrico (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

5.1.2. Concentração interna de carbono CO_2 (C_i)

Apesar da redução da fotossíntese líquida nos três genótipos (Figura 3), pôde-se observar (Figura 3) que não houve ou foi pouca a redução da C_i em todos os tratamentos avaliados na condição de déficit hídrico. A redução da condutância estomática g_s limita a absorção de carbono, uma vez que, a redução da g_s implica no fechamento da abertura estomática e conseqüentemente na redução de absorção do carbono.

Porém, observa-se a redução do C_i apenas nos tratamentos sob restrição hídrica, em CNPA 76 AM nos tratamentos com e sem nitrogênio, BRS Havana em SEMIA 6144 e 123-10A e em 2012-4 nos tratamentos de SEMIA 4077 e com e sem nitrogênio.

Resultados semelhantes foram observados por Suassuna (2011), quando genótipos de citros submetidos a déficit hídrico, mantiveram o C_i com valores próximos entre às condições de irrigado ou não irrigado. Isso justifica que as plantas quando sob injúrias

ambientais, ajustam os mecanismos morfológicos de tolerância à seca. Ferraz et al. (2012) observaram que não houve diferença significativa para a variável C_i em ecotipos de *Phaseolus vulgaris* L. cultivados no semiárido, ressaltando que nem sempre ocorre a redução de C_i em condições de déficit hídrico. Efeito semelhante encontrado no presente trabalho, onde não se observou redução significativa do carbono, sendo que em alguns dos tratamentos o C_i ficou próximo ou até mesmo um pouco acima na condição de déficit hídrico, quando comparado ao controle irrigado.

Esse comportamento fisiológico é possível, haja vista, o carbono encontrar-se presente nas câmaras subestomáticas sendo acessado para fotossíntese em condições ambientais normais, porém, em condições de déficit hídrico podem ocorrer falhas no fotossistema, provocadas pela restrição hídrica, interferindo no acesso ao carbono e consequentemente afetando a fotossíntese, mesmo que este esteja em quantidades altas nos estômatos (BERTOLLI et al., 2015).

Outro fator é que, mesmo em condição de estresse a planta ainda abre parte dos estômatos para absorver CO_2 , de forma a tornar possível o equilíbrio e a sobrevivência (MACHADO et al., 2009; SILVA et al., 2015). A perda de água pelas plantas é um fator que afeta a assimilação de CO_2 , pois para evitar a perda excessiva de água os estômatos se fecham e abrem em menor quantidade, o que leva a planta a reduzir automaticamente o C_i , uma vez que a água não pode ser perdida o CO_2 não pode entrar pela abertura estomática (SHIMAZAKI et al., 2007; FLEXAS et al., 2009).

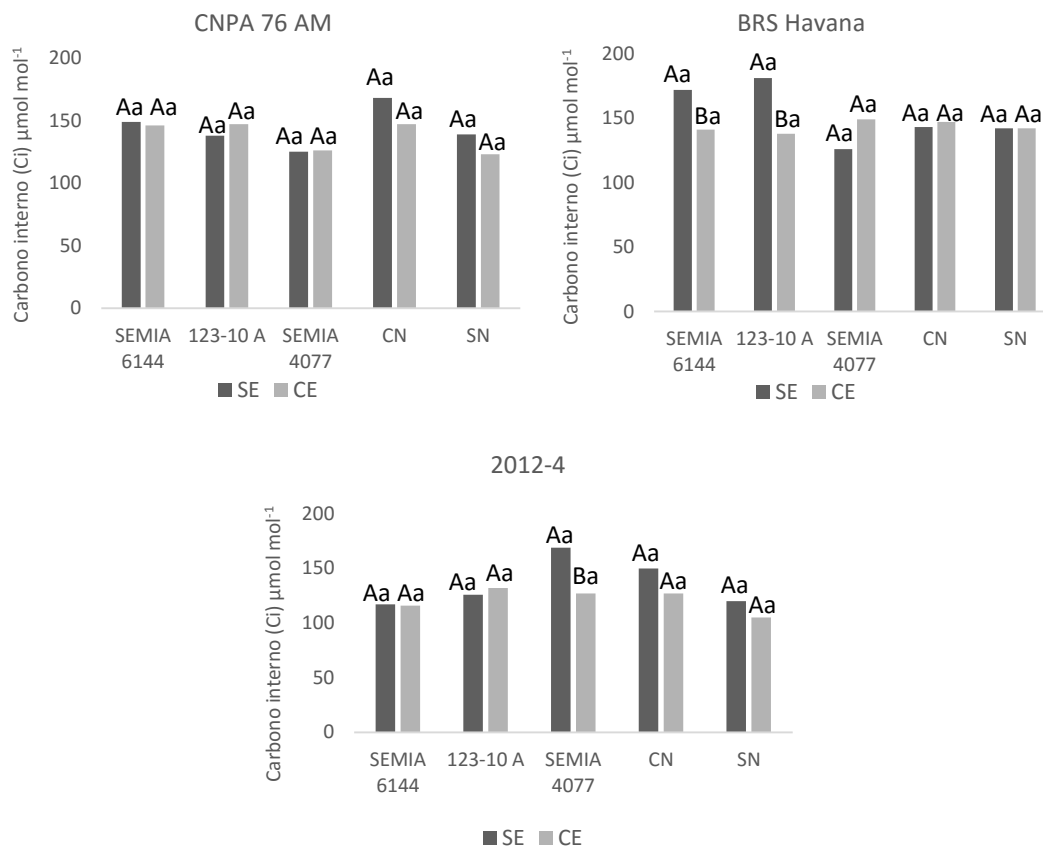


Figura 3. Concentração interna de carbono em folhas de plantas de amendoim submetidas a déficit hídrico e cultivadas na presença de rizóbios (SEMIA 6144, 123-10A e SEMIA 4077). Manejos: CN – com nitrogênio; SN – sem nitrogênio. Letra maiúscula para os regimes hídricos dentro do genótipo (regime hídrico: SE – sem estresse e CE – com estresse) e letra minúscula para o tratamento dentro do regime hídrico (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

5.1.3. Condutância estomática (g_s)

A g_s é um fator importante para na avaliação de trocas gasosas nas plantas, pois indica o fechamento dos estômatos, estruturas responsáveis pela saída de água e entrada de CO_2 (GONÇALVES et al., 2010; FERRAZ et al., 2014).

Nos genótipos avaliados pôde-se observar que houve redução da g_s em todos os tratamentos inoculados sob restrição hídrica, com mais de 50% de redução na g_s , em relação aos tratamentos irrigados (Figura 4). Porém, quando comparados com os controles contendo nitrogênio, observa-se houve eficiência da estirpe 123-10A, em manter a g_s mais próxima ao nível da condição irrigada quando nos genótipos CNPA 76 AM, BRS Havana e 2012-4 (Figura 4). Em BRS Havana (Figura 4) a redução da g_s foi no máximo de 64% 123-10A. Em 2012-4 a redução da g_s foi de apenas 40% com 123-

10A, sob déficit hídrico. Isso permite ressaltar que para *gs* o genótipo 2012-4 inoculado com a estirpe 123-10A e submetido à deficiência hídrica foi responsivo, por ter menor redução da condutância estomática, demonstrando que o rizóbio pode de alguma forma contribuir e/ou auxiliar a planta a tolerar as condições adversas do déficit hídrico.

Apesar de não ser relacionado na literatura trabalhos avaliando a interação de plantas-microrganismos em condição de déficit hídrico, Kalariya et al. (2013) observaram a redução da condutância estomática em variedades de amendoim, quando estas foram submetidas ao déficit hídrico, observando reduções na *gs* entre 20% e 55%, sem a presença de inoculantes. Porém, no presente trabalho foi observado a redução da *gs*, mas quando analisados os tratamentos, constatou-se que a estirpe 123-10A influenciou a *gs* de forma que a mesma tivesse a menor redução dentre os tratamentos.

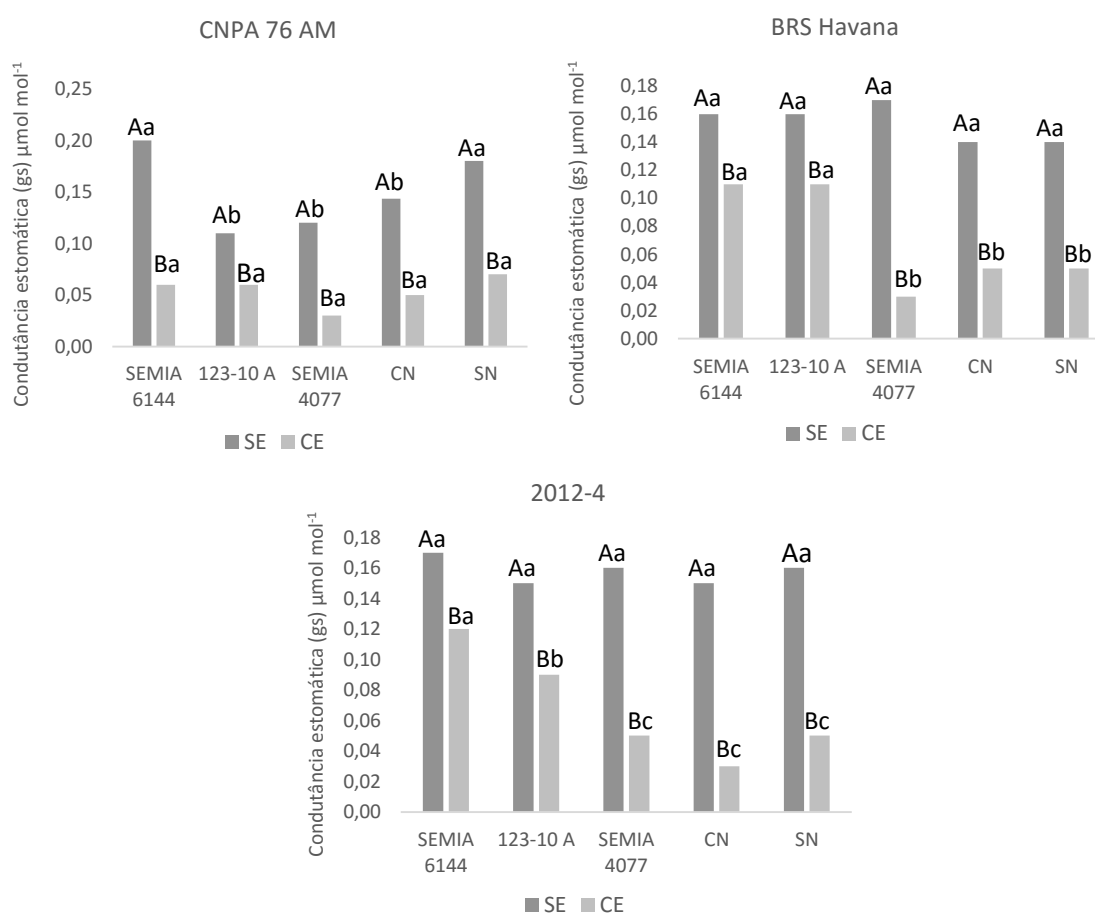


Figura 4. Condutância estomática em folhas de plantas de amendoim submetidas a déficit hídrico e cultivadas na presença de rizóbios (SEMIA 6144, 123-10A e SEMIA 4077). Manejos: CN – com nitrogênio; SN – sem nitrogênio. Letra maiúscula para os regimes hídricos dentro do genótipo (regime hídrico: SE – sem estresse e CE – com estresse) e letra minúsc.ula para o tratamento dentro do regime hídrico (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

5.1.4. Transpiração

A transpiração é um processo essencial para as plantas durante a fotossíntese. Plantas C3 podem perder cerca de 600 moléculas de água para cada molécula de CO₂ fixada (PIMENTEL, 2004). Porém, quando estas são submetidas ao estresse hídrico, a transpiração é reduzida para manter o balanço hídrico na planta, a transpiração é um fator inerente à espécie e a condição ambiental que a mesma se encontra (CLAVEL et al., 2004; YAN et al., 2016), embora dentro da mesma espécie possa haver variação de respostas fisiológicas para genótipos distintos. Isso pode ser observado no presente trabalho, onde houve resultados distintos da transpiração entre os genótipos estudados (Figura 5).

No presente trabalho verificou-se redução na transpiração em todos os genótipos submetidos ao estresse hídrico. Contudo, observa-se um efeito contrário nos genótipos BRS Havana e 2012-4 quando inoculados com SEMIA 6144, nos quais a redução da transpiração foi menor ao longo do período de déficit hídrico. Resultado similar foi observado para os genótipos CNPA 76 AM e BRS Havana no tratamento com nitrogênio.

Azevedo Neto et al. (2010) observaram em cinco cultivares de amendoim que a redução da transpiração variou de 89% a 94% até o fim do período de estresse. Contudo, no presente estudo observou-se, em geral, a maior redução da transpiração ao final do período de déficit hídrico, de dez dias, nos genótipos CNPA 76 AM quando inoculado com SEMIA 6144, em BRS Havana com SEMIA 4077 e em 2012-4 com nitrogênio, a redução foi de 70%, 71% e 72%, respectivamente. Essa é uma consequência prevista, pois conforme a disponibilidade hídrica diminui no solo, os estômatos se fecham e a transpiração diminui para evitar a perda de água (ALBUQUERQUE et al., 2013). Isso é observado, pois, assim como diminuiu a transpiração houve a redução da fotossíntese (Figura 2) e da condutância estomática (Figura 4).

Trabalhando com um genótipo de amendoim tolerante ao estresse hídrico, Nogueira et al. (2006) perceberam que a transpiração foi significativamente afetada aos 3 dias de estresse, onde a redução foi de 48% a 62% em relação as plantas controle, sem inoculantes. Porém neste estudo, na presença dos inoculantes SEMIA 6144, 123-10A e SEMIA 4077, no genótipo 2012-4, a menor redução na transpiração foi de 21%, 40% e 52%.

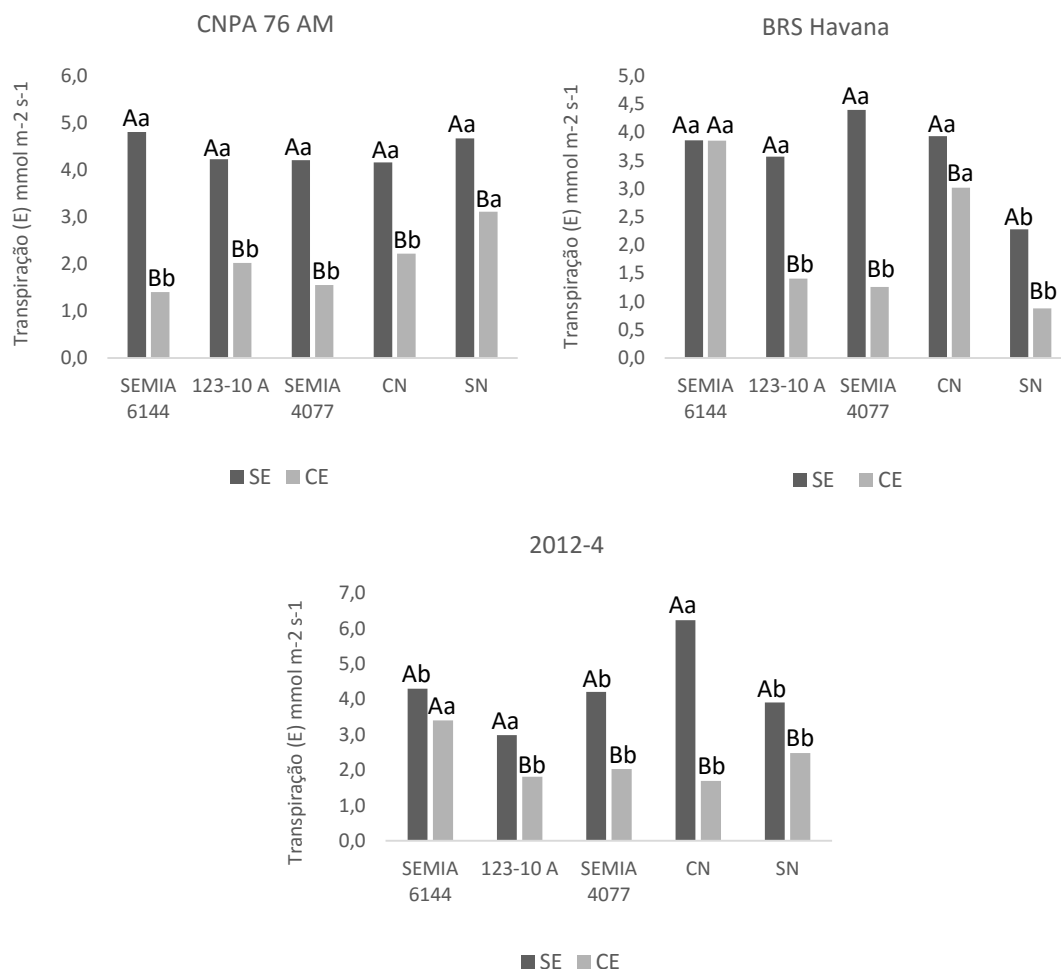


Figura 5. Transpiração em folhas de plantas de amendoim submetidas a déficit hídrico e cultivadas na presença de rizóbios (SEMIA 6144, 123-10A e SEMIA 4077). Manejos: CN – com nitrogênio; SN – sem nitrogênio. Letra maiúscula para os regimes hídricos dentro do genótipo (regime hídrico: SE – sem estresse e CE – com estresse) e letra minúscula para o tratamento dentro do regime hídrico (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

5.1.5. Eficiência instantânea da carboxilação

A relação entre a taxa de assimilação de CO_2 e a concentração de CO_2 intracelular (A/C_i) é o cálculo realizado para obter a eficiência instantânea da carboxilação (E_iC), ou seja, o quanto de CO_2 foi utilizado no processo de fotossíntese (KONRAD et al., 2005).

Para a E_iC houve redução na maioria dos tratamentos, indicando baixa eficiência da carboxilação (Figura 6). Com exceção dos genótipos BRS Havana e 2012-4 inoculados com SEMIA 6144 e em CNPA 76 AM no tratamento sem nitrogênio, que não teve redução ou foi menor em relação aos outros tratamentos e quando comparados a condição irrigada.

Em condições de déficit hídrico um dos fatores que causa a diminuição da E_iC é a menor absorção de CO_2 (DUTRA et al., 2015), de acordo com Ferraz et al. (2012), sob déficit hídrico, a resistência da difusão gasosa limita a assimilação de CO_2 (A), causada pelo fechamento estomático, refletindo na eficiência da carboxilação. Esse cenário, pode ser verificado na redução da fotossíntese (Figura 2) e da condutância estomática (Figura 4), embora o carbono interno não tenha diminuído (Figura 3), sendo que este estava estocado nas câmaras subestomáticas.

Assim como no presente trabalho, o déficit hídrico afetou a E_iC causando a redução da mesma, em cultivares de feijão-caupi (DUTRA et al., 2015) e cultivares de laranjeiras (MAGALHÃES FILHO et al., 2008).

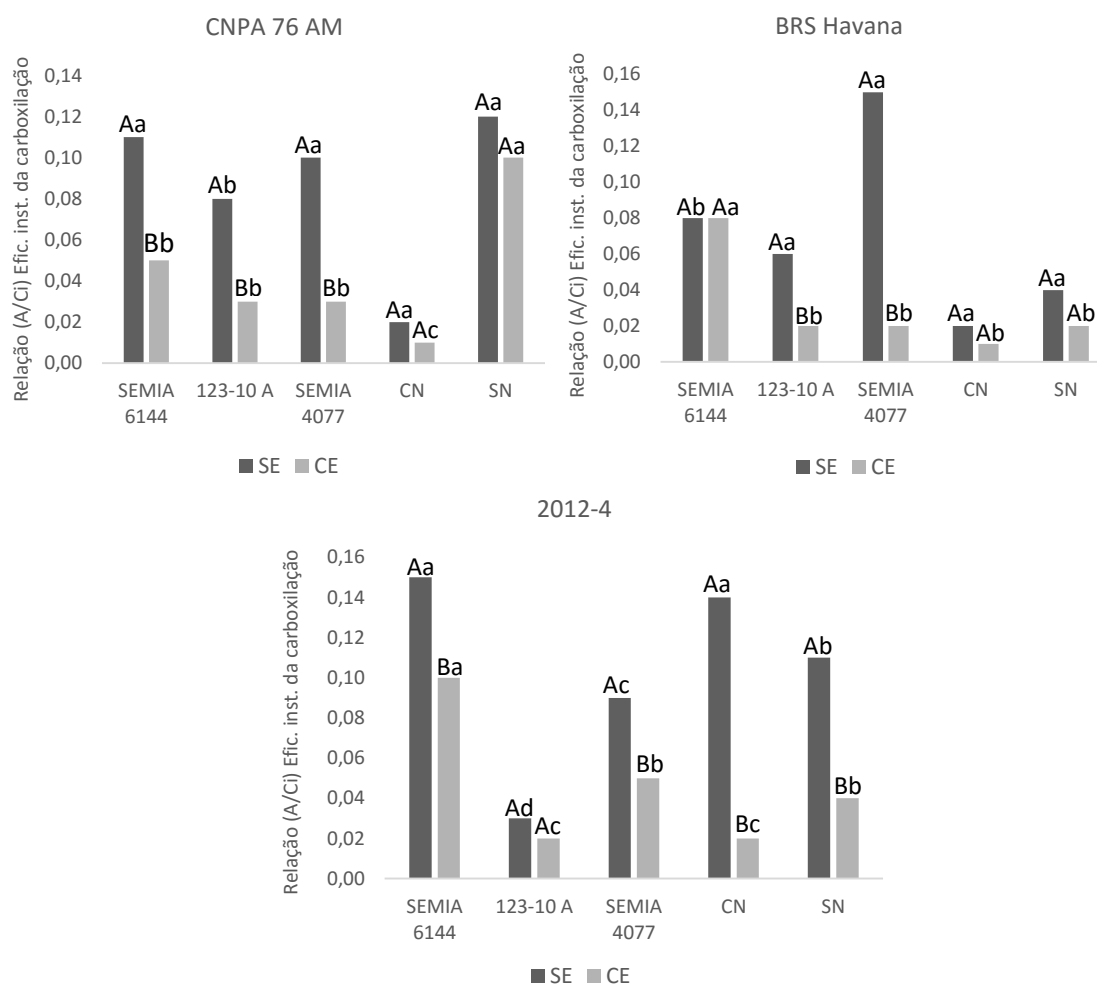


Figura 6. Eficiência da carboxilação em folhas de plantas de amendoim submetidas a déficit hídrico e cultivadas na presença de rizóbios (SEMIA 6144, 123-10A e SEMIA 4077). Manejos: CN – com nitrogênio; SN – sem nitrogênio. Letra maiúscula para os regimes hídricos dentro do genótipo (regime hídrico: SE – sem estresse e CE – com estresse) e letra minúscula para o tratamento dentro do regime hídrico (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

5.1.6. Eficiência do uso da água

A Eficiência do Uso da Água (EUA) é a taxa que representa a quantidade de carbono fixado durante a fotossíntese para cada molécula de água perdida durante esse processo (JAIMEZ et al., 2005). O fechamento estomático é importante para evitar a perda excessiva de água na transpiração, permitindo a utilização do CO₂ acumulado nas câmaras subestomáticas e reduzindo a perda de água no déficit hídrico (BERTOLLI et al., 2015; YAN et al., 2016).

Pôde-se observar que em geral, não houve redução na EUA, apenas nos genótipos CNPA 76 AM e BRS Havana quando inoculados com 123-10A, sendo, portanto, mais eficiente. Essa resposta está diretamente ligada à transpiração (Figura 7), que foi reduzida ao longo do déficit hídrico, mesmo tendo baixa taxa fotossintética (Figura 2) e condutância estomática com menor redução (Figura 4), contribuindo para uma melhor utilização da água, presente nas plantas.

As plantas C3 de clima semiárido podem ser tolerantes a seca, por possuírem controle estomático e alta EUA, isso é variável entre e dentro das espécies, sendo dependente das características fisiológicas e dessas associadas a outras características das plantas, tais como, desenvolvimento radicular e morfologia da parte aérea (PIMENTEL, 2004).

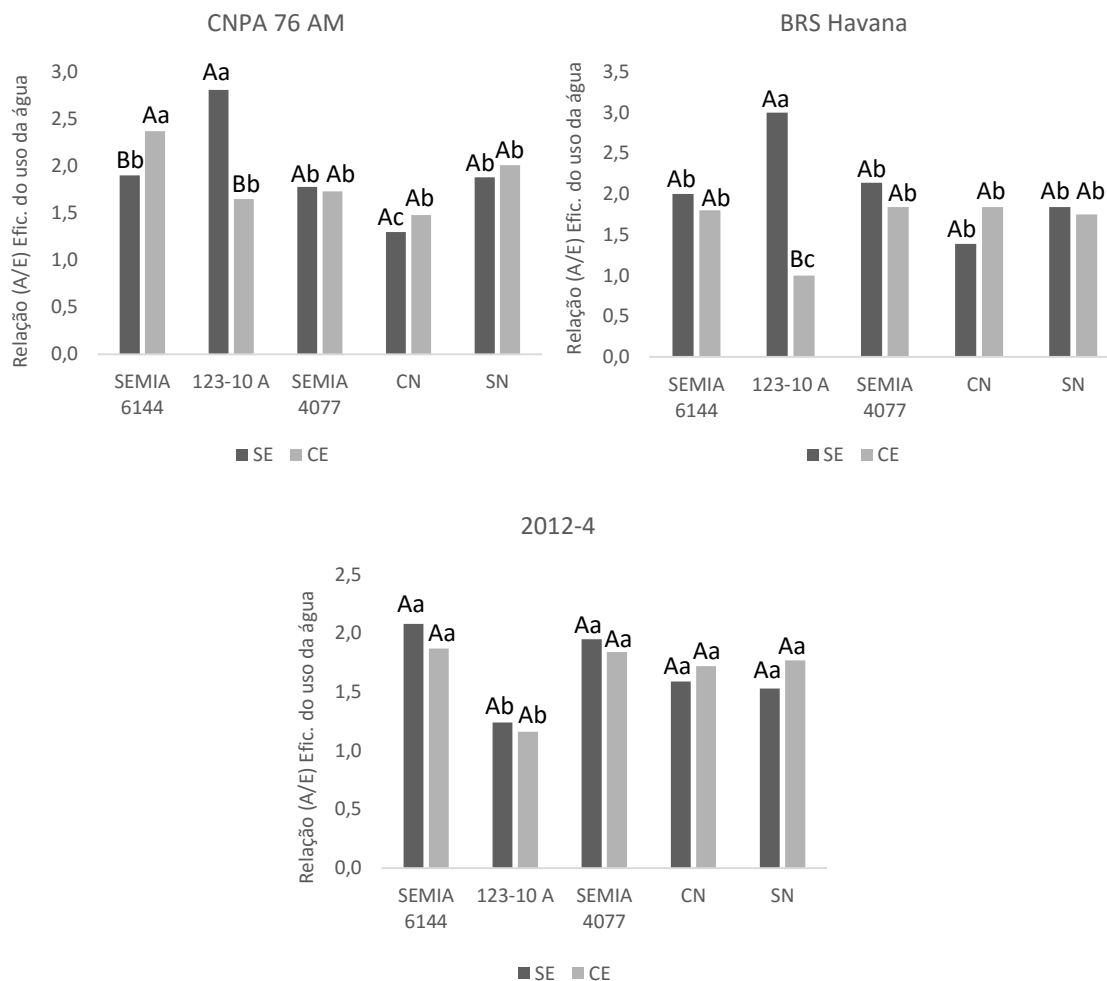


Figura 7. Eficiência do uso da água em folhas de plantas de amendoim submetidas a déficit hídrico e cultivadas na presença de rizóbios (SEMIA 6144, 123-10A e SEMIA 4077). Manejos: CN – com nitrogênio; SN – sem nitrogênio. Letra maiúscula para os regimes hídricos dentro do genótipo (regime hídrico: SE – sem estresse e CE – com estresse) e letra minúscula para o tratamento dentro do regime hídrico (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

5.2. Crescimento vegetativo

Para as variáveis de crescimento vegetativo, houve diferença significativa nos genótipos CNPA 76 AM, BRS Havana e 2012-4 para as variáveis analisadas de altura de planta (AP), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), número de nódulos (NN) e massa seca de nódulos (MSN) a $p < 0,01$, na interação (T x RH) (Tabela 5).

Tabela 5. Resumo da análise de variância para as variáveis de altura de planta (AP), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), número de nódulos (NN) e massa seca de nódulos (MSN), Campina Grande –PB, 2016.

Fonte de variação	GL	Quadrado médio					
		AP	MSPA	MSR	NN	MSN	NAPA
T	4	10,670**	1,879*	0,005**	874,500**	0,000**	8,220ns
RH	1	89,787**	48,133**	0,018**	563,333**	2,803ns	873,414**
T x RH	4	7,909**	4,372**	0,009**	2808,416**	0,000ns	19,546ns
Resíduo	20	1,540	0,626	0,000	76,800	0,000	8,768
CV (%)		9,34	14,75	11,33	17,67	26,08	24,31
Média		13,29	5,36	0,24	49,60	0,011	12,17

ns- não significativo; **, * - significativo a 1% e 5% de probabilidade pelo teste F. T- Tratamento; RH – Regime hídrico.

5.2.1. Altura de planta (AP)

Apesar da redução da AP em todos os genótipos sob condição de déficit hídrico, nos genótipos CNPA 76 AM e 2012-4 observou-se os maiores valores médios, com 11,5 cm e 9,7 cm, respectivamente (Tabela 6) (Figuras 8 e 10). Contudo, no CNPA 76 AM a altura de planta foi maior para o tratamento inoculado com SEMIA 6144 (13,6 cm), seguido de 123-10A (11,5 cm) e SEMIA 4077 (11,4 cm). O genótipo 2012-4 na presença das estirpes 123-10A (11,4 cm) e SEMIA 4077 (10,3 cm), em condição de déficit hídrico, apresentou AP próximo aos tratamentos inoculado e irrigado, mostrando a contribuição positiva das bactérias em relação aos tratamentos sem inoculação (Tabela 6).

O genótipo BRS Havana também foi responsivo a inoculação, pois as plantas quando inoculadas tiveram AP maior que as não inoculadas sob déficit hídrico, com um crescimento de 5,6 cm, 3,2 cm e 5,1 cm para os tratamentos com SEMIA 6144, 123-10A e SEMIA 4077, respectivamente (Tabela 6) (Figura 9). Esses resultados também foram maiores quando comparados aos tratamentos sem inoculantes na mesma condição hídrica, embora, a altura das plantas tenha sido menor em relação aos demais, durante o período de experimento, para ambos regimes hídricos (Tabela 6).

Pois, segundo Santos et al. (2006), descreveram dentre as várias características da cultivar BRS Havana, a altura da haste principal, a qual poderia atingir de 34-40 cm. Porém, no presente trabalho se avaliou até os 30 dias de desenvolvimento vegetativo, aproximadamente, e a altura máxima observada foi de 7,7 cm na condição irrigada e 5,6 cm para não irrigado, ambas inoculadas com SEMIA 6144. Porém, esses resultados indicam, um reflexo da interferência do tamanho dos vasos, utilizados no experimento,

que constituem um fator limitante para o desenvolvimento da planta e, não reflete o máximo potencial da cultura, como seria em condição de campo. Isso não apenas para este genótipo, mas também para todos os outros estudados neste trabalho.

Assim como no presente trabalho, Correia e Nogueira (2004) e Duarte et al. (2013), também observaram a redução da altura de planta, em genótipos de amendoim sob condição de déficit hídrico, porém, sem inoculação de bactérias. No entanto, esses trabalhos não tiveram a inoculação de inoculantes.

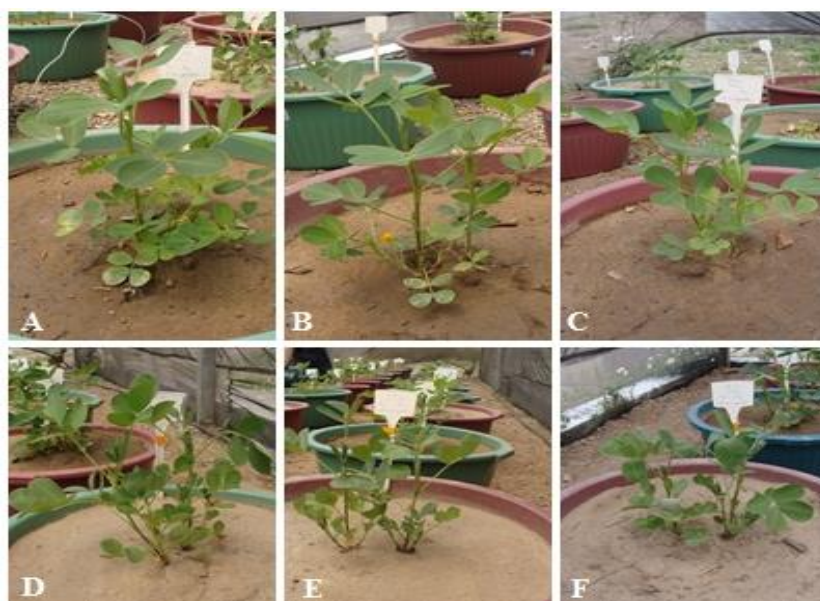


Figura 8. Cultivo de plantas do genótipo CNPA 76 AM em bacias e mantidas em casa de vegetação, com 10 DEH e inoculadas com: (A) SEMIA 6144, sem estresse hídrico; (B) 123-10A, sem estresse hídrico; (C) SEMIA 4077, sem estresse hídrico; (D) SEMIA 6144, com estresse hídrico; (E) 123-10A com estresse hídrico; (F) SEMIA 4077, com estresse hídrico.

Tabela 6. Médias obtidas para as variáveis altura da planta (AP) (cm), massa seca da parte aérea (MSPA) (g), massa seca da raiz (MSR) (g), número de nódulos (NN), peso dos nódulos (MSN) (g) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) (mg g⁻¹), para os genótipos CNPA 76 AM, BRS Havana e 2012-4, Campina Grande-PB, 2016.

Tratamentos	ALT (cm)		MSPA (g)		MSR (g)		NN		MSN (g)		NAPA (mg g ⁻¹)	
	SEH	CEH	SEH	CEH	SEH	CEH	SEH	CEH	SEH	CEH	SEH	CEH
CNPA 76 AM												
SEMIA 6144	15,3Ab	13,6Ba	6,2Aa	4,8Ba	0,261Ab	0,170Bd	97Aa	36Bb	0,015Aa	0,016Aa	17,42Aa	12,55Ba
123-10A	18,1Aa	11,5Ba	4,6Ab	4,3Aa	0,188Bc	0,270Aa	77Aa	33Bb	0,016Aa	0,011Aa	14,07Ab	10,61Aa
SEMIA 4077	12,2Ab	11,4Aa	7,4Aa	4,0Ba	0,271Ab	0,204Bc	26Bb	71Aa	0,011Aa	0,012Aa	20,54Aa	9,86Ba
CN	15,3Ab	10,7Ba	8,2Aa	3,5Ba	0,288Ab	0,236Bb	36Ab	39Ab	0,009Ab	0,006Ab	22,32Aa	9,56Ba
SN	14,0Ab	10,4Ba	6,3Aa	3,7Ba	0,347Aa	0,229Bb	32Ab	46Ab	0,006Ab	0,009Ab	18,51Aa	8,90Ba
BRS Havana												
SEMIA 6144	7,7Aa	5,6Ba	5,6Aa	2,2Ba	0,261Ab	0,125Bb	68Aa	39Ba	0,007Ab	0,013Bb	12,78Aa	6,00Ba
123-10A	6,4Aa	3,2Ba	5,3Aa	4,0Ba	0,271Ab	0,185Ba	85Aa	64Ba	0,024Aa	0,012Bb	13,72Aa	9,72Aa
SEMIA 4077	4,1Ab	5,1Aa	4,8Aa	3,5Ba	0,146Ad	0,088Bc	85Aa	16Bb	0,016Aa	0,019Aa	12,49Aa	8,98Aa
CN	4,4Ab	2,1Bb	6,3Aa	2,8Ba	0,350Aa	0,164Ba	64Aa	22Bb	0,013Ab	0,006Bc	16,32Aa	7,85Ba
SN	5,3Aa	2,6Bb	4,1Aa	3,2Ba	0,195Ac	0,161Aa	42Ab	58Aa	0,020Aa	0,002Bc	10,42Ab	8,06Aa
2012-4												
SEMIA 6144	13,3Aa	8,4Ba	4,4Aa	3,1Ba	0,270Ab	0,230Ab	66Aa	53Aa	0,027Aa	0,010Ba	12,00Ab	7,71Aa
123-10A	12,5Aa	11,4Aa	4,3Aa	3,4Aa	0,250Ab	0,243Ab	39Ab	15Bb	0,015Ab	0,014Aa	11,35Ab	9,40Aa
SEMIA 4077	10,4Aa	10,3Aa	6,1Aa	4,1Ba	0,381Aa	0,267Ba	36Ab	29Aa	0,011Bb	0,017Aa	15,04Aa	10,17Ba
CN	11,1Aa	9,2Ba	4,2Aa	3,1Aa	0,260Ab	0,246Ab	38Ab	19Ab	0,005Ac	0,003Ab	11,79Ab	8,52Aa
SN	12,0Aa	9,43Ba	7,8Aa	3,2Ba	0,371Aa	0,296Ba	44Aa	28Aa	0,016Ab	0,007Bb	20,42Aa	8,04Ba

Letras maiúsculas comparando as médias nas linhas entre os regimes hídricos e letras minúsculas nas colunas comparando os tratamentos dentro do mesmo regime hídrico (Teste de Tukey, p<0,05)

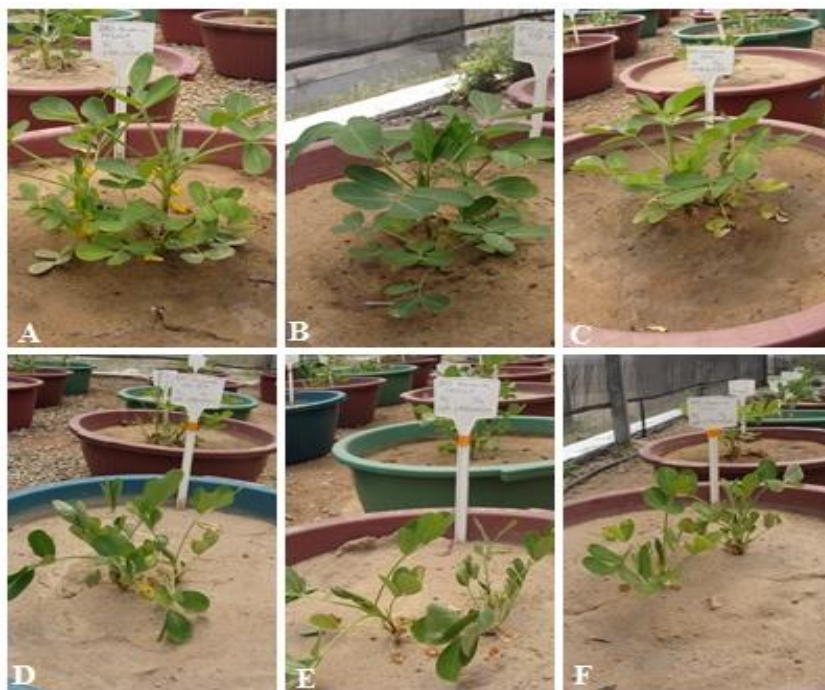


Figura 9. Cultivo de plantas do genótipo BRS Havana em bacias e mantidas em casa de vegetação, com 10 DEH e inoculadas com: (A) SEMIA 6144, sem estresse hídrico; (B) 123-10A, sem estresse hídrico; (C) SEMIA 4077, sem estresse hídrico; (D) SEMIA 6144, com estresse hídrico; (E) 123-10A com estresse hídrico; (F) SEMIA 4077, com estresse hídrico.

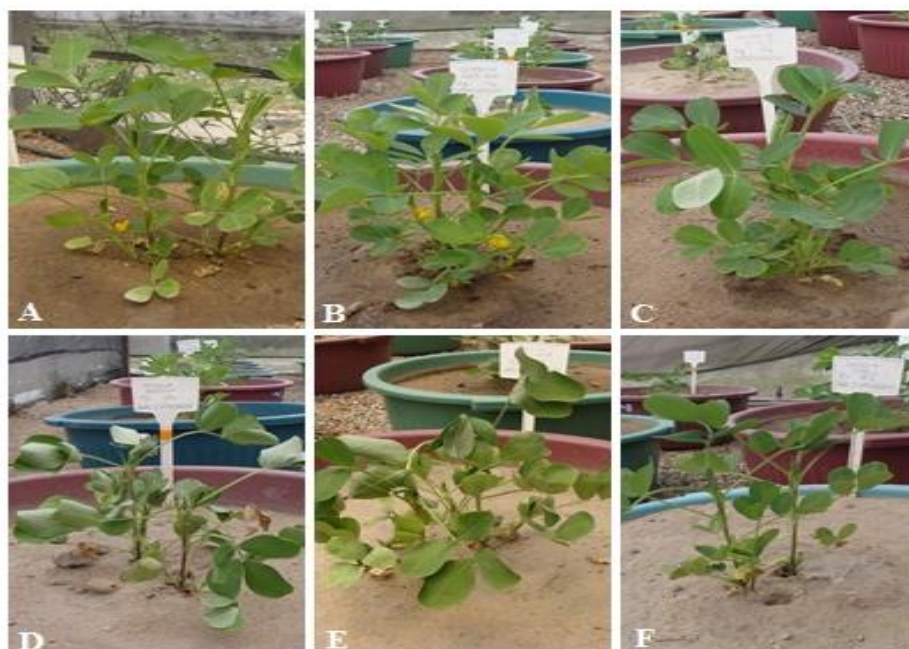


Figura 10. Cultivo de plantas do genótipo 2012-4 em bacias e mantidas em casa de vegetação, com 10 DEH e inoculadas com: (A) SEMIA 6144, sem estresse hídrico; (B) 123-10A, sem estresse hídrico; (C) SEMIA 4077, sem estresse hídrico; (D) SEMIA 6144, com estresse hídrico; (E) 123-10A com estresse hídrico; (F) SEMIA 4077, com estresse hídrico.

5.2.2. Massa seca da parte aérea (MSPA)

Assim com a altura de planta, a MSPA também foi afetada pelo déficit hídrico, umas das alternativas de fuga da planta é a redução da parte aérea e expansão da raiz, dessa forma, a planta pode economizar água e aumentar a área radicular para encontrar água (SANTOS et al., 2015).

No presente estudo observou-se que a MSPA foi reduzida em todos os tratamentos sob condição de déficit hídrico (Tabela 6). CNPA 76 AM foi o genótipo com menor redução, cerca de 7% a menos na MSPA em relação ao tratamento irrigado quando inoculado com 123-10A e com a maior redução da MSPA quando tratado com nitrogênio, com 57% a menos em relação ao tratamento irrigado. No genótipo BRS Havana notou-se a maior redução (61%) para os tratamentos com SEMIA 6144 e nitrogênio e a menor redução (22%) para o tratamento sem nitrogênio. Enquanto que no genótipo 2012-4, a maior redução da MSPA foi para o tratamento sem nitrogênio com 59% e a menor foi de 21% com o inoculante 123-10A. Apesar das variações, a estirpe 123-10A foi a mais eficiente para manter a MSPA nos três genótipos investigados, próximo da condição irrigada.

Outro fato observado é a relação entre a AP e a MSPA, quando AP foi menor a MSPA foi maior e quando a AP foi maior a MSPA foi menor, sob condição de déficit hídrico, quando comparado as plantas controle. Para CNPA 76 AM, a redução da AP foi 11% com SEMIA 6144 e 36% com 123-10A, a redução da MSPA dos mesmos tratamentos foi de 23% e 7%, respectivamente. Nos tratamentos com e sem nitrogênio a redução da AP foi de 30% e 26%, respectivamente. Para os mesmos tratamentos com e sem nitrogênio, a redução da MSPA foi de 57% e 41%, respectivamente.

Com esses resultados, constata-se que, a interação benéfica entre rizóbio e planta, proporcionando o desenvolvimento vegetal, ainda que este esteja sob condições ambientais limitantes. Pois, como citado anteriormente; vários trabalhos evidenciam a promoção do crescimento vegetal por bactérias (DODD et al., 2010; VACHERON et al., 2013; PÉREZ-MONTAÑO et al., 2014). Resultados semelhantes foram observados por Patra et al. (2012) observaram a eficiência da inoculação de *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* em cultivares de soja que obtiveram melhores rendimentos na produção de massa seca.

5.2.3. *Massa seca da raiz (MSR)*

No genótipo CNPA 76 AM houve resposta similar quando inoculado com as três estirpes investigadas, com perda média de 34% em relação à condição de irrigada. Para o tratamento sem nitrogênio, observou-se a maior perda da MSR. A diminuição da MSR para o genótipo BRS Havana foi maior com nitrogênio, cerca de 54% e menor com 123-10A, quando comparado com os tratamentos sob condições de irrigação. Porém, houve um incremento de 25% no tratamento com nitrogênio sob déficit hídrico. Para 2012-4, observou-se menor redução da MSR em todos os tratamentos sob déficit hídrico quando comparados com os tratamentos irrigados, notando-se uma maior eficiência do genótipo nesse aspecto. Contudo, a maior redução observada foi de 18%, quando inoculado com SEMIA 4077 e as menores reduções foram observadas nos tratamentos com nitrogênio e 123-10A de 3,8% e 4%, respectivamente (Tabela 6).

Ainda para o genótipo 2012-4, observou-se ao calcular a porcentagem de redução das variáveis AP, MSPA e MRS, na condição de déficit hídrico, a estirpe 123-10A, foi o tratamento com menor redução para as três variáveis estudadas, com 9%, 2% e 3% de redução, respectivamente. Indicando a provável influência positiva, da estirpe em amenizar os danos causados pelo déficit hídrico ao crescimento vegetal.

Em geral, esses resultados destacam a influência do déficit hídrico sob a MSR, que diminui ao longo do período de restrição hídrica. Porém, pode-se observar, que no presente trabalho, a redução foi menos acentuada nos tratamentos com rizóbios, podendo estes atuarem na mitigação dos danos causados pela falta de água, assim, a planta desencadeia mecanismos de ajuste osmótico, tornando o potencial hídrico nas células vegetais mais negativo que o solo, para manter a absorção de água.

Durante o déficit hídrico, as plantas utilizam parte dos assimilados produzidos pela fotossíntese, ou originários da degradação do amido para estimular o crescimento do sistema radicular, na busca de encontrar água no solo, isso resulta em uma maior área radicular (ALBUQUERQUE et al., 2013). Também há uma estimulação do crescimento radicular por rizobactérias promotoras de crescimento, como os rizóbios, que além da FBN, podem induzir a produção de citocininas na raiz aumentando a proliferação de pelos absorventes (VACHERON et al., 2013).

5.2.4. Número de nódulos (NN)

Em relação ao NN, observa-se que houve redução do NN nos três genótipos inoculados sob restrição hídrica, sendo o maior decréscimo observado no BRS Havana quando inoculado com SEMIA 4077 (81%). No genótipo CNPA 76 AM houve redução em mais de 50%, em todas as três estirpes investigadas, já a menor redução (18%) foi observada em 2012-4 em interação com SEMIA 6144 (Tabela 6).

Trabalhando com genótipos de amendoim submetidos à inoculação com SEMIA 6144 e em condições normais de irrigação durante 90 dias, Melo (2013) estimou uma média do número de nódulos de 32 para BRS Havana, enquanto que, no presente trabalho com a duração de 30 dias após a semeadura a média foi de 65. Já com as estirpes 123-10A e SEMIA 4077 a média foi de 85 nódulos sob irrigação e 64 nódulos sob restrição hídrica (Tabela 6). Contudo, segundo Peixoto et al. (2010), a massa seca e o número de nódulos são indicadores indiretos para determinar a eficiência da inoculação, sendo estes relativos na interação entre planta-rizóbio.

Apesar da não inoculação nos tratamentos com e sem nitrogênio observou-se nodulação, contudo, o NN foi em geral menor em todos os genótipos. Isso provavelmente se deve a presença de bactérias nativas do solo, já que o solo não foi autoclavado.

5.2.5. Massa seca de nódulos (MSN)

Para o genótipo CNPA 76 AM sob déficit hídrico houve um incremento de 6% na massa seca de nódulos (MSN) com SEMIA 6144 e redução de 45% e 8% para 123-10A e SEMIA 4077, respectivamente, em comparação com o tratamento irrigado. No BRS Havana, notou-se incremento na MSN quando inoculado com o SEMIA 6144 e SEMIA 4077, na ordem de 85% e 18%, respectivamente. No genótipo 2012-4 houve aumento de 54% quando inoculado com SEMIA 4077 e redução para os tratamentos inoculados com SEMIA 6144 e 123-10A de 62% e 7%, respectivamente (Tabela 6).

Resultados semelhantes foram observados por Melo (2014), onde cultivares de *Phaseolus vulgaris* L., quando inoculadas com a estirpe SEMIA 4077, também tiveram redução da MSN e do NN, causada pelos efeitos do déficit hídrico. Porém, mesmo sob déficit hídrico, a MSN e o NN podem variar em função da capacidade de adaptação de bactérias promotoras de crescimento vegetal, por serem capazes de produzir alguns compostos que lhes conferem tolerância à seca, tais como, exopolissacarídeos (SOUZA

e GARCIA-CRUZ, 2004), biofilme (BRANDA et al., 2006) e/ou sideróforos (VARDHARAJULA et al., 2011).

Observou-se também, que em geral, a MSN com bactérias nativas presentes nos tratamentos com e sem nitrogênio foi menor que a MSN com as estirpes SEMIA 6144, 123-10A e SEMIA 4077 inoculadas nos três genótipos investigados (Tabela 6).

5.2.6. Nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA)

Pode-se observar que o NAPA foi maior nos tratamentos irrigados, porém, os tratamentos que tiveram maior acúmulo de nitrogênio sob déficit hídrico foram CNPA 76 AM quando inoculado com SEMIA 6144 e com 123-10A, com média de 12,55 e 10,61 mg g⁻¹, respectivamente (Tabela 6). Apesar de não diferir estatisticamente quando comparado ao regime hídrico irrigado, no genótipo BRS Havana houve maior NAPA, na presença das estirpes 123-10A e SEMIA 4077, com valores médios de 9,72 e 8,98 mg g⁻¹, respectivamente. O mesmo perfil foi observado para o genótipo 2012-4, também na presença das estirpes 123-10A e SEMIA 4077, os valores médios foram de 9,40 e 10,17 mg g⁻¹, respectivamente. Mesmo sendo muito próximos os valores, quando comparados aos tratamentos não inoculados, nota-se que houve eficiência das bactérias na nodulação (Tabela 6).

Contudo, para os tratamentos CN e SN houve interação dos genótipos de amendoim com bactérias nativas do solo, mesmo com baixa quantidade de matéria orgânica (Tabela 3). Isso ocorre, pois, o amendoim é uma espécie que tem facilidade de nodular com ampla variedade de rizobactérias nativas de solo (BORGES et al., 2007). Assim, como outras leguminosas também possuem afinidade em formar associação com rizóbios nativos do solo (SOUZA et al., 2007; MENDES et al., 2013). Isso justifica a presença de nodulação por bactérias fixadoras de N nas plantas controles, sem inoculação.

Ferreira et al. (2000) observaram a presença de nódulos de bactérias nativas de solo no tratamento sem inoculação em plantas de *Phaseolus vulgaris* L. Silva et al. (2008), também observaram a presença de estirpes nativas do solo em feijão-caupi e Melo (2013), observou em amendoim sem inoculação, respectivamente. Isso, provavelmente, se deve a não esterilização do solo para os experimentos.

A FBN tem grande importância para as leguminosas, pois, é o principal mecanismo de suplementação de N para as plantas (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006; CARDOSO e NOGUEIRA, 2007; SANTOS NETO et al., 2013), uma vez que as plantas

precisam da FBN para obter o N. A deficiência deste elemento em consequência da seca pode afetar a absorção e assimilação de nutrientes essenciais ao desenvolvimento vegetal, bem como a produção de enzimas como a Rubisco, essencial ao processo da fotossíntese e, que tem o N como elemento constituinte da sua estrutura química (PIMENTEL, 2004; GIL-QUINTANA et al., 2013; GOPALAKRISHNAN et al., 2015).

5.3. Atividade antioxidante

Para as variáveis analisadas: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e teor de prolina, houve diferença significativa a $p < 0,01$, na interação (T x RH) (Tabela 7).

Tabela 7. Resumo da análise de variância para as enzimas superóxido dismutase (SOD) ($U\ SOD\ min^{-1}\ mg\ proteina^{-1}$), catalase (CAT) ($\mu mol\ de\ H_2O_2\ min^{-1}\ mg\ proteina^{-1}$) e ascorbato peroxidase (APX) ($\mu mol\ de\ ASC\ min^{-1}\ mg\ proteina^{-1}$) e o teor de prolina ($\mu mol\ g^{-1}\ MF$) para os genótipos CNPA 76 AM, BRS Havana e 2012-4, Campina Grande-PB, 2016.

Fonte de variação	GL	Quadrado médio			
		SOD	CAT	APX	Prolina
Tratamento (T)	4	18,6672**	0,1218**	56,5581**	0,0079**
Regime hídrico (RH)	1	52,8856**	0,0043ns	75,1536**	0,0565**
Inter. T x RH	4	30,9664**	0,1049**	52,5747**	0,0030**
Resíduo	20	2,16480	0,0184	10,1902	0,0002
CV (%)		12,27	18,52	16,11	7,80
Média		11,99	0,73	19,81	0,22

ns- não significativo; **, * - significativo a 1% e 5% de probabilidade pelo teste F.

5.3.1. Atividade enzimática da SOD

Observou-se que em CNPA 76 AM a atividade da SOD aumentou 51% apenas quando inoculado com SEMIA 6144, os outros tratamentos houve diminuição da SOD sob restrição hídrica (Tabela 8). Embora quando observado a AP, MSPA e MSR, houve uma redução de aproximadamente 11%, 23% e 35% (Tabela 6), respectivamente.

Em BRS Havana, o resultado foi semelhante quando inoculado com SEMIA 6144 para ambos os regimes hídricos, não havendo diferença significativa, apesar das reduções da AP, MSPA e MSR terem sido altas, cerca de 27%, 61% e 52%, respectivamente (Tabela 6). Em 123-10A com déficit hídrico, a atividade da SOD foi reduzida em 30% (Tabela 8), quanto aos demais tratamentos houve aumento da SOD, sendo que com a estirpe SEMIA 4077 observou-se aumento de 78% na atividade da enzima e redução da AP, MSPA e MSR de 20%, 27% e 40%, respectivamente (Tabela 6).

Em 2012-4, a atividade da SOD foi menor em quase todos os tratamentos submetidos ao estresse hídrico, apenas para SEMIA 6144 houve um leve aumento, cerca de 2% em relação ao regime hídrico irrigado. Mesmo com redução da atividade enzimática da SOD no genótipo 2012-4, a maioria dos tratamentos tiveram menor redução da AP, MSPA e MSR, sendo que quando inoculado com 123-10A a redução foi a menor dentre os tratamentos, com 9%, 2% e 3%, respectivamente (Tabela 6). Provavelmente, as plantas não sofreram estresse, não necessitando da ação efetiva da SOD.

Mesmo sob restrição hídrica não houve aumento da atividade da SOD na maioria dos tratamentos. Porém, os resultados obtidos neste trabalho, de até 78% no aumento da SOD, foram maiores que os encontrados por Pereira et al. (2012), que observaram um aumento de 3% a 13% da SOD em folhas de amendoim submetidos ao déficit hídrico. A SOD tem função de dismutar o radical superóxido, que quando em alta quantidade nas plantas sob estresse oxidativo resultante do déficit hídrico (PILON et al., 2011).

Vale salientar que alguns fatores podem causar a diminuição da ação das enzimas antioxidantes CAT, APX e SOD, onde estas dão lugar a ação de outros antioxidantes tão importantes e eficientes na defesa contra estresses abióticos, quanto as enzimas estudadas no trabalho em questão. Estudando os danos do estresse salino em genótipos de feijão-Caupi, Maia et al. (2012), relataram a diminuição da ação antioxidante das referidas enzimas e aumento da ação da peroxidase de fenol (POX), enzima capaz de remover o H_2O_2 por meio do ciclo catalítico peroxidativo (PASSARDI et al., 2004), a ação da POX seria uma forma de evitar e/ou amenizar o estresse oxidativo secundário decorrente de estresses abióticos (MAIA et al., 2012).

Tabela 8. Médias obtidas para as variáveis superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), prolina e porcentagem para a redução da atividade enzimática em CEH – com estresse hídrico em relação ao SEH – sem estresse hídrico, para os genótipos CNPA 76 AM, BRS Havana e 2012-4, Campina Grande-PB, 2016.

Tratamentos	SOD			CAT			APX			Prolina		
	SEH	CEH	(%)	SEH	CEH	(%)	SEH	CEH	(%)	SEH	CEH	(%)
CNPA 76 AM												
SEMIA 6144	8,05Bc	12,17Aa	51	0,45Bc	0,77Aa	71	14,18Bb	19,57Aa	4	0,19Ba	0,28Aa	47
123-10A	18,90Aa	10,69Ba	-43	0,60Ab	0,48Bb	-20	26,84Aa	20,50Ba	-23	0,15Ab	0,16Ab	7
SEMIA 4077	14,17Ab	10,07Aa	-29	1,01Aa	0,62Bb	-38	25,25Aa	18,28Ba	-28	0,15Bb	0,29Aa	93
CN	12,56Ab	11,35Aa	9	0,86Aa	0,86Aa	0	16,18Ab	16,90Aa	4	0,16Ba	0,28Aa	75
SN	12,92Ab	9,03Aa	-19	0,78Ab	0,85Aa	9	24,37Aa	15,88Ba	-35	0,21Ba	0,29Aa	38
BRS HAVANA												
SEMIA 6144	10,72Aa	10,73Aa	0	0,64Bb	0,86Ab	34	22,20Aa	23,32Ab	5	0,13Bb	0,29Aa	123
123-10A	9,17Aa	6,38Ab	-30	0,57Ab	0,33Bc	-42	13,88Ab	9,50Bc	-31	0,15Ba	0,26Aa	73
SEMIA 4077	9,35Bb	16,68Aa	78	0,91Aa	0,99Aa	9	16,00Ba	19,40Ab	21	0,16Ba	0,26Aa	62
CN	9,69Aa	10,44Aa	8	0,75Aa	0,34Bc	-55	18,52Ba	25,49Ab	37	0,18Aa	0,19Aa	5
SN	10,99Bb	15,42Aa	40	0,34Bc	1,23Aa	262	11,85Bb	33,52Aa	190	0,19Ba	0,23Aa	21
2012-4												
SEMIA 6144	9,97Ab	10,22Ba	2	0,71Ba	1,15Aa	70	21,51Aa	23,49Aa	9	0,20Ba	0,26Aa	30
123-10A	12,78Aa	10,14Ba	-20	0,56Ba	0,86Ab	53	21,87Aa	15,91Bb	27	0,22Ba	0,29Aa	32
SEMIA 4077	11,51Aa	7,44Bb	-35	0,23Bc	0,77Ab	234	18,63Aa	18,82Aa	1	0,15Bb	0,29Aa	93
CN	10,16Aa	9,37Ba	-8	0,45Bb	0,93Aa	106	23,50Aa	24,82Aa	6	0,15Bb	0,29Aa	93
SN	11,44Aa	9,20Ba	-19	0,37Bb	0,75Ab	102	21,22Ba	25,15Aa	18	0,13Bb	0,30Aa	130

Letras maiúsculas comparando as médias nas linhas entre os regimes hídricos e letras minúsculas nas colunas comparando os tratamentos dentro do mesmo regime hídrico (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

5.3.2. Atividade da enzima CAT

Apesar de redução na atividade da CAT em alguns tratamentos sob déficit hídrico, como no observado nos genótipos CNPA 76 AM inoculado com 123-10A e SEMIA 4077 (Tabela 8), a redução da MSPA, sob esses dois tratamentos, foi menor. No BRS Havana inoculado com 123-10A também foi menor a redução da MSPA e da MSR (Tabela 6). Contudo, a atividade da CAT foi maior em todas as outras condições sob restrição hídrica.

Fato que permite dizer que houve ação da enzima na degradação do H_2O_2 . A inoculação com a estirpe SEMIA 6144 promoveu aumento da CAT nos genótipos CNPA 76 AM, BRS Havana e 2012-4 de 71%, 34% e 70%, respectivamente, isso também pode ser observado para atividade da APX. No genótipo 2012-4 o maior aumento da CAT foi na presença de SEMIA 4077, com 234% (Tabela 8).

Diante desses resultados, constatou-se, que a CAT a eficácia na defesa das plantas contra o estresse hídrico, principalmente, nas condições de maior sensibilidade, degradando o peróxido de hidrogênio. Também houve aumento significativo nos tratamentos com e sem nitrogênio, pois, no genótipo 2012-4 o aumento foi de 106% e 104%, respectivamente. E no genótipo BRS Havana o aumento foi de 262% no tratamento sem nitrogênio (Tabela 8).

Segundo Akcay et al. (2010), a CAT tem uma resposta rápida na degradação do H_2O_2 , uma vez que essa enzima não necessita de agentes redutores. Ao contrário da APX que precisa de elétrons doados pelo ascorbato, para poder quebrar o H_2O_2 e liberar H_2O e O_2 . Sob déficit hídrico moderado, há aumento da atividade das enzimas CAT e APX (SANKAR et al., 2007), porém com o passar do tempo, acontece o contrário, ocorre a redução na atividade enzimática, ao longo da imposição do estresse hídrico. Fato este observado por Azevedo Neto et al. (2010), ao trabalharem com genótipos de amendoim sob estresse hídrico durante 20 dias, no presente trabalho o estresse durou 10 dias.

5.3.3. Atividade da enzima APX

A atividade da APX no genótipo CNPA 76 AM teve aumento de apenas 4% quando inoculado com SEMIA 6144 e em com nitrogênio, porém, observa-se em SEMIA 6144 o aumento da SOD que foi de 51% e da CAT de 71% (Tabela 8) e por isso, não tenha sido necessário maior atividade da APX, por existir a ação das outras enzimas e, que a APX teria apenas a função de complementar a defesa da planta (Tabela 8). Em BRS Havana observou-se aumento da atividade da SOD, quando inoculada com as estirpes

SEMIA 6144 e SEMIA 4077, de 5% e 21%, respectivamente, porém, em SEMIA 6144 houve menor redução da fotossíntese (Figura 2), do carbono interno (Figura 3), da condutância estomática (Figura 4) e da AP e maior redução da MSPA e MSR (Tabela 6), quando comparados aos demais tratamentos sob restrição hídrica. Esses resultados refletem um ajustamento morfofisiológico da planta, em tolerar os efeitos do déficit hídrico.

Em 2012-4 observou-se que a atividade da APX foi maior apenas no tratamento com 123-10A, cerca de 27%, houve ainda, menor redução da fotossíntese (Figura 2), do carbono interno (Figura 3), da condutância estomática (Figura 4), da AP, da MSPA e da MSR (Tabela 6). Também observou-se aumento da APX em quase todos os genótipos nos tratamentos com e sem nitrogênio e no genótipo BRS Havana o aumento foi de até 190% para o manejo sem nitrogênio (Tabela 8).

A APX tem função de degradar o H_2O_2 , quando este se encontra em grande quantidade nas células causando danos celulares, isso justifica o fato dos genótipos de amendoim submetidos ao estresse hídrico terem em alguns tratamentos elevados valores de APX. Possivelmente a enzima está agindo na degradação do H_2O_2 . Nos tratamentos em que a enzima obteve valores menores ou próximos da condição irrigada, implica-se dizer que não está sendo necessária a ação da enzima, e/ou há ação de outras enzimas antioxidantes como a CAT, em que pôde-se observar maior atividade quando comparada a APX.

Os resultados obtidos no presente trabalho, divergem dos encontrados por Pereira et al. (2012), que trabalhando com genótipos de amendoim sob condições de déficit hídrico, observaram o aumento da APX em todos os tratamentos estressados em relação ao controle irrigado, porém, sem inoculação. Furlan et al. (2012), ao analisarem plantas de amendoim submetidas ao déficit hídrico e inoculadas com *Bradyrhizobium* notaram que houve um aumento de APX nas folhas e nos nódulos sob condição de estresse abiótico. Porém, no neste trabalho não houve aumento expressivo de APX nas folhas dos tratamentos inoculados, sendo que os menores valores observados para a APX na degradação do peróxido, foram compensados pela CAT, havendo um complemento de uma enzima em função da outra (Tabela 8).

5.3.4. Teor de prolina

No presente trabalho o teor de prolina aumentou em todos os tratamentos sobre restrição hídrica em todos os genótipos de amendoim estudados (Tabela 8), que pode ser atribuído a prolina, por ser um osmolito, que tem o teor acrescido em plantas sob déficit hídrico (AZEVEDO NETO et al., 2010). Resultados similares foram encontrados por Pereira et al. (2012), que relataram o aumento de até 105% no teor de prolina em genótipos de amendoim submetidos ao estresse hídrico, porém, estes genótipos não estavam sob o efeito de inoculação, como neste trabalho, Padmavathi e Rao (2013), também registraram aumento da prolina em genótipos de amendoim submetidos ao déficit hídrico.

Contudo, observou-se no presente estudo um aumento menor apenas para CNPA 76 AM inoculado com 123-10A, que foi de apenas 7%, com menor redução da MSPA e em BRS Havana com os tratamentos CN e SN, com aumento de 5% e 21%, respectivamente, mas houve a maior redução da MSPA no tratamento com nitrogênio. Sabe-se que o aumento da prolina ocorre para promover o ajustamento osmótico, importante mecanismo de manutenção e regulação do turgor celular. O acúmulo de substâncias como a prolina impede maiores danos a plantas que se encontram sob algum tipo de estresse (MARIN et al., 2010; MONTEIRO et al., 2014; KANG et al., 2014).

O genótipo BRS Havana foi o único que obteve maior teor de prolina quando comparado aos tratamentos com e sem N. Este resultado sugere que a presença de bactérias fixadoras de N em simbiose com o BRS Havana pode ter induzido uma resposta mais eficiente das plantas submetidas ao estresse.

O ajustamento ocorre para diminuir o metabolismo celular, evitando a perda de água para o solo, esse ajuste ocorre de maneira que o potencial hídrico (Ψ_w) da planta se torna mais negativo que o solo (ALBUQUERQUE et al., 2013). O acúmulo de solutos ativos de baixo peso molecular permite que mesmo em baixa quantidade de água, a planta seja capaz de manter a fotossíntese e a abertura estomática em baixa atividade, foi o caso dos tratamentos com e sem nitrogênio no genótipo 2012-4 que tiveram maiores valores do teor de prolina e maior redução da fotossíntese e da condutância estomática e, tiveram em geral menor redução da AP, MSPA e MSR (CHAVES FILHO e STACCIARINI-SERAPHIN, 2001; NEPOMUCENO et al., 2001). Dentre os solutos ativos destacam-se os carboidratos solúveis totais, o amido (SUDACHKOVA et al., 2002), a glicina betaína

(CHEN e MURATA, 2008) e a prolina (SZABADOS e SAVOURÉ, 2010; DEMIDCHIK, 2015).

Na literatura não são encontrados muitos trabalhos que destaquem os benefícios das bactérias promotoras de crescimento de plantas sob condições de déficit hídrico. A possibilidade das mesmas, contribuírem na tolerância do vegetal durante a seca, de maneira que a bactéria não supra a necessidade por água, mas que ela, de alguma forma possa amenizar os efeitos da estiagem sobre o seu hospedeiro. Por esta razão, faz-se necessário mais investigações sobre esses microrganismos e como eles podem ser úteis para o desenvolvimento das plantas sob condições de estresses abióticos.

O grupo de estirpes investigadas no presente trabalho integra o grupo de bactérias promotoras de crescimento, capazes de proporcionar desenvolvimento e crescimento vegetal, a partir de vários fatores, que vai desde a fixação biológica de nitrogênio, a indução e até produção de fitormônios. Proporcionando que plantas como as leguminosas prosperem nos seus habitats, além de permitir o ciclo natural do nitrogênio. A partir destes e de outros benefícios, a aplicação de inoculantes na agricultura traz benefícios para a cultura e o solo, reduzindo a poluição do solo causada por fertilizantes químicos e os custos de produção agrícola. Além disso, podem contribuir para a tolerância vegetal aos efeitos de estresses abióticos, a partir da estimulação e produção de osmorreguladores.

6 CONCLUSÕES

- ✓ O déficit hídrico reduziu as trocas gasosas (A , g_s , E , E_iC) e o crescimento vegetativo nos genótipos de amendoim;
- ✓ O teor de prolina aumentou nas plantas submetidas à restrição hídrica;
- ✓ As enzimas antioxidantes atuaram de acordo com a necessidade de defesa da planta;
- ✓ Os três genótipos avaliados: CNPA 76 AM, BRS Havana e 2012-4 inoculados com 123-10A e SEMIA 6144, tiveram menos danos causados pelo déficit hídrico;
- ✓ Considerando todas as variáveis analisadas, a estirpe 123-10A foi a mais responsiva aos genótipos de amendoim submetidos ao déficit hídrico.

REFERÊNCIAS

- AKCAY, U. C.; ERCAN, O.; KAVAS, M.; YILDIZ, L.; YILMAZ, C.; OKTEM, H. A.; YUCEL, M. Drought-induced oxidative damage and antioxidant responses in peanut (*Arachis hypogaea* L.) seedlings. **Plant Growth Regulation**, v. 61, p. 21-28, 2010.
- ALBUQUERQUE, M. P. F.; MORAES, F. K. C.; SANTOS, R. I. N.; CASTRO, G. L. S.; RAMOS, E. M. L. S.; PINHEIRO, H. A. Ecofisiologia de plantas jovens de mogno-africano submetidas à deficit hídrico e reidratação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, n. 1, p. 9-16, 2013.
- ALCANTARA, R. M. C. M.; XAVIER, G. R.; RUMJANEK, N. G.; ROCHA, M. M.; CARVALHO, J. S. Eficiência simbiótica de progenitores de cultivares brasileiras de feijão-caupi. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 1, p. 1-9, 2014.
- AZEVEDO NETO, A. D.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; MELO FILHO, P. A.; SANTOS, R. C. Physiological and biochemical responses of peanut genotypes to water deficit. **Journal of Plant Interactions**, v. 5, p. 1-10, 2010.
- AZEVEDO, R. A.; ALAS, R. M.; SMITH, R. J.; LEA, P. J., Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-tipe and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, v. 104, n. 2, p. 280-292, 1998.
- BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciências Agrárias**, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014.
- BARTELS, D.; SUNKAR, R. Drought and salt tolerance in plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 24, n. 1, p. 23-58, 2005.
- BATES L.; WALDREN R. P.; TEARE I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, p. 205-207, 1973.

BERTOLLI, S. C.; SOUZA, J.; SOUZA, G. M. Caracterização fotossintética da espécie isohídrica pata-de-elefante em condições de deficiência hídrica. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 28, n. 3, p. 196 – 205, 2015.

BEZERRA NETO, E.; BARRETO, L.P. **Análises químicas e bioquímicas em plantas**. Imprensa Universitária da UFRPE, p. 261, 2011.

BIDOIA, M. A. P.; SANTOS, D. M. M.; MARIN, A.; LANDELL, M. G. A.; BANZATTO, D. A.; CAZETTA, J. O. Efeito da deficiência hídrica no acúmulo de prolina livre em cana-de-açúcar, em diferentes períodos de desenvolvimento. **STAB - Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 24, n. 5, p. 6-9, 2006.

BOLONHEZI, D. Colheita e pós-colheita do amendoim. In: SANTOS, R. C. (ed). **O agronegócio do amendoim no Brasil**. 1. ed. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2013, p. 245-261.

BORGES, W. L. **Análise da variabilidade genética e avaliação da fixação biológica de nitrogênio entre acessos de amendoim (*Arachis hypogaea* L.)**. Rio de Janeiro, 2006. p. 48. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

BORGES, W. L.; SILVA, C. E. R.; XAVIER, G. R.; RUMJANEK, N. G. Nodulação e fixação biológica de nitrogênio de acessos de amendoim com estirpes nativas de rizóbios. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 2, n. 1, p. 32-37, 2007.

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

BRANDA, S. S.; CHU, F.; KEARNS, D. B.; LOSICK, R.; KOLTER, R. A. A major protein component of the *Bacillus subtilis* biofilm matrix. **Molecular Microbiology**, v. 59, n. 4, p. 1229-1238, 2006.

BRAY, E. A.; BAILEY-SERRES, J.; WERETILNYK, E. Responses to abiotic stress. In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. (Ed.). **Biochemistry e Molecular**

Biology of Plants. 3. ed. Rockville: American Society of Plant Physiologists, p. 1158-1203, 2001.

BRIGHT, J.; DESIKAN, R.; HANCOCK, J.T.; WEIR, I.S.; NEILL, S.J. ABA-induced generation and stomatal closure in *Arabidopsis* are dependent on H₂O₂ synthesis, **The Plant Journal**, v. 45, p. 113-122, 2006.

BUCHERT, F.; FORREITER, C. Singlet oxygen inhibits ATPase and proton translocation activity of the thylakoid ATP synthase CF₁CF_o. **FEBS Letters**, v. 584, p. 147-152, 2010.

BULBOVAS, P.; RINALDI, M. C. S.; DELITTI, W. B. C.; DOMINGOS, M. Variação sazonal em antioxidantes em folhas de plantas jovens de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28, n. 4, p. 687-696, 2005.

CARDOSO, E. J. B. N.; NOGUEIRA, M. A. A rizosfera e seus efeitos na comunidade microbiana e na nutrição de plantas. In: SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S. **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Instituto Agrônomo, Campinas, p. 312, 2007.

CHANDLER, M. L. Some observations of infection of *Arachis hypogaea* L. by *Rhizobium*. **Journal Experimental Botany**. v.29, p.749-755, 1978.

CHANG WS, VAN DE MROTEL M, NIELSEN L, GUZMAN GN, LI X, HALVERSON LJ. Alginate roduction by *Pseudomonas putida* creates a hydrated microenvironment and contributes to biofilm architecture and stress tolerance under water-limiting conditions. **J Bacteriol**, v. 189, n. 22, p. 8290-8299, 2007.

CHAVES FILHO, J. T.; STACCIARINI-SERAPHIN, E. Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (*Solanum lycocarpum* St.-Hil.) em resposta ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 24, n. 2, p. 199-204, 2001.

CHEN, T. H. H.; MURATA, N. Glycine betaine: an effective protectant against abiotic stress in plants. **Trends in Plant Science**, v. 13, p. 499-505, 2008.

CLAVEL, D.; SARR, B.; MARONE, E.; ORTIZ, R. Potential agronomic and physiological traits of Spanish groundnut varieties (*Arachis hypogaea* L.) selection criteria under end-of-cycle drought conditions. **Agronomie**, v. 24, p. 101-111, 2004.

CONAB Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira: Grãos**. Boletim informativo. Nono Levantamento. Safra 2015/2016. Brasília, DF, v. 3, n. 3 p. 152, 2015.

CORREIA, K. G.; NOGUEIRA, R. J. M. C. Avaliação do crescimento do amendoim (*Arachis hypogaea* L.) submetido a déficit hídrico. **Revista Biologia e Ciências da Terra**, v. 4, n. 2, p. 7, 2004.

CUNHA, J. B. de A.; NUNES, I. A.; GAVA, C. A. T.; SANTOS, R.C.; MARTINS, L. M. V.; FERNANDES JUNIOR, P. I.; Diversidade cultural de bactérias isoladas de nódulos de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) cultivados em solos do Nordeste do Brasil. In: Congresso Brasileiro de Ciências do Solo, Florianópolis – SC. **Anais: ISBN 978-85-85014-71-1**. SBCS, 2013.

DEMIDCHIK, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology. **Environmental and Experimental Botany**, v. 109, p. 212–228, 2015.

DIZDAROGLU, M.; JARUGA, P. Mechanisms of free radical-induced damage to DNA. **Healthcare**, v. 46, n. 4, p. 382-419, 2012.

DODD, I. C., ZINOVKINA, N.Y., SAFRONOVA, V. I., AND BELIMOV, A. A. Rhizobacterial mediation of plant hormone status. **Annals of Applied Biology**, v. 157, p. 361–379, 2010.

DUARTE, E. A. A.; MELO FILHO, P. A.; SANTOS, R. C. Características agronômicas e índice de colheita de diferentes genótipos de amendoim submetidos a estresse hídrico. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.17, n.8, p.843–847, 2013.

DUTRA, A. F.; MELO, A. S.; FILGUEIRAS, L. M. B.; SILVA, A. R. F.; OLIVEIRA, I. M.; BRITO, M. E. B. Parâmetros fisiológicos e componentes de produção de feijão-

caupi cultivado sob deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 10, n. 2, p. 189-197, 2015.

EL-BASHITI, T.; HAMAMCI, H.; OKTEM, H. A.; YUCEL, M. Biochemical analysis of trehalose and its metabolizing enzymes in wheat under abiotic stress conditions. **Plant Science**, Limerik, v. 169, p. 47-54, 2005.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Nutrição Mineral das plantas**. Londrina: Editora Planta, 2006.

FAROOQ, M.; WAHID, A.; KOBAYASHI, N. Plant drought Stress: Effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable and Development**, n. 29, p. 185-212, 2009.

FERRAZ, R. L. S.; BELTRÃO, N. E. M.; MELO, A. S.; MAGALHÃES, I. D.; FERNANDES, P. D.; ROCHA, M. S. Trocas gasosas e eficiência fotoquímica de cultivares de algodoeiro herbáceo sob aplicação de silício foliar. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 2, p. 735-748, 2014.

FERRAZ, R. L. S.; MELO, A. S. SUASSUNA, J. F.; BRITO, M. E. B.; FERNANDES, P. D.; JUNIOR, E. S. N. Trocas gasosas e eficiência fotossintética de ecótipos de feijoeiro cultivados no semiárido. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 42, n. 2, p. 181-188, 2012.

FERREIRA, A. N.; ARF, O.; CARVALHO, M. A. C.; ARAUJO, R. S.; SÁ, M. E.; BUZETTI, S. Estirpes de *Rhizobium tropici* na inoculação do feijoeiro. **Scientia Agricola**, v. 57, n.3, p. 507-512, 2000.

FERREIRA, D.F. SisVar® (Software estatístico): Sistema de análise de variância para dados balanceados, versão 5.6, Lavras: DEX/UFLA, 2011.

FLEXAS, J.; BARÓN, M.; BOTA, J.; DUCRUET, J.; GALIÉ, A.; GALMÉS, J.; JIMÉNEZ, M.; POU, A.; RIBAS-CRABÓ, M.; SAJINANI, C.; TOMÁS, M.; MEDRANO, H. Photosynthesis limitations during water stress acclimation and recovery in the drought-adapted Vitis hybrid Richter-110 (*V. berlandieri* x *V. rupestris*). **Journal of Experimental Botany**, Lan-caster, v. 60, n. 8, p. 2361-2377, 2009.

FOLLI-PEREIRA, M. S.; MEIRA-HADDAD, L. S. A.; BAZZOLLI, D. M. S.; KASUYA, M. C. M. Micorriza arbuscular e a tolerância das plantas ao estresse. **Revista Brasileira Ciências do Solo**, n. 36, p. 1663-1679, 2012.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAOSTAT). Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/291/default.aspx>. Acessado em: 15/12/2015.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Ascorbate and glutathione: the heart of the redox hub. **Plant Physiology**. v. 155, p. 2-18, 2011.

FURLAN, A.; LLANES, A.; LUNA, V.; CASTRO, S. Physiological and biochemical responses to drought stress and subsequent rehydration in the symbiotic association peanut-*Bradyrhizobium* sp. **ISRN Agronomy**, p. 8, 2012.

GARA, L.; LOCATO, V.; DIPIERRO, S.; PINTO, MC. Redox homeostasis in plants. The challenge of living with endogenous oxygen production. **Respiratory Physiology e Neurobiology**. v. 173, p. 513-519, 2010.

GIL-QUINTANA, E.; LARRAINZAR, E.; SEMINARIO, A.; DÍAZ-LEAL, J.; ALAMILLO, J. M.; PINEDA, M.; ARRESE-IGOR, C.; WIENKOOP, S.; GONZÁLEZ, E. M. Local inhibition of nitrogen fixation and nodule metabolism in drought-stressed soybean. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 8, p. 2171–2182, 2013.

GODOY, I.J.; MORAES, S.A.; ZANOTTO, M.D.; SANTOS, R.C. Melhoramento do amendoim. In: **Melhoramento de espécies cultivadas**, UFV, p. 54-95, 2005.

GONÇALVES, E. R.; FERREIRA, V. M.; SILVA, V. J.; ENDRES, L.; BARBOSA, T. P.; DUARTE, W. G. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* em variedades de cana-de-açúcar submetidas à deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v. 14, n. 4, p. 378–386, 2010.

GOPALAKRISHNAN, S.; SATHYA, A.; VIJAYABHARATHI, R.; VARSHNEY, R. K.; GOWDA, C. L. L.; KRISHNAMURTHY, L. Plant growth promoting rhizobia: challenges and opportunities. **3 Biotech**, v. 5, p. 355–377, 2015.

GRATÃO, P. L. **Análise da resposta antioxidativa de células de *Nicotiana tabacum* cv BY-2 submetidas ao cádmio.** Piracicaba, SP, 2004. p. 128. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

HACKBARTH, S.; SCHLOTHAUER, J.; PREUß, A.; RODER, B. “New insights to primary photodynamic effects—singlet oxygen kinetics in living cells,” **Journal of Photochemistry and Photobiology B**, v. 98, n. 3, p. 173–179, 2010.

HOFFMAN, L.V.; SOUSA, J.M.; JACOME, R.G.; SUASSUNA, T.M.F. Seleção de isolados de rizóbio para nodulação em amendoim. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, v. 11, n. 2, p. 107-111, 2007.

HONGBO, S.; ZONGSUO, L.; MINGAN, S. Osmotic regulation of 10 wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes at soil water deficits. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 47, n. 2, p. 132-139, 2006.

HUANG, L.; LUA, Y.; GAO, X.; DU, G.; MAC, X.; LIUA, M.; GUOD, J.; CHEN, Y. Ammonium-induced oxidative stress on plant growth and antioxidative response of duckweed (*Lemna minor* L.). **Ecological Engineering**. n. 58, p. 355– 362, 2013.

ISLAM, F.; YASMEEN, T.; ALI, Q.; ALI, S.; ARIF, M.S.; HUSSAIN, S.; RIZVI, H. Influence of *Pseudomonas aeruginosa* as PGPR on oxidative stress tolerance in wheat under Zn stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, n. 104, p. 285-293, 2014.

JAIMEZ, R.E.; RADA, F.; GARCIA-NUNEZ, C.; AZOCAR, A. Seasonal variations in leaf gas exchange of plantain cv. Harton (*Musa AAB*) under different soil water conditions in a humid tropical region. **Scientia Horticulturae**, v. 104, p. 79–89, 2005.

KACI, Y.; HEYRAUD, A.; BARAKAT, M.; HEULIN, T. Isolation and identification of an EPS-producing *Rhizobium* strain from arid soil (Algeria): characterization of its EPS and the effect of inoculation on wheat rhizosphere soil structure. **Research in Microbiology**, v.156, p. 522–531, 2005.

KALARIYA, K. A.; SINGH, A. L.; CHAKRABORTY, K.; ZALA, P. V.; PATEL, C. Photosynthetic characteristics of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) under water deficit stress. **Indian Journal Plant Physiology**, Gujarat, India v. 18, n. 2, p. 157–163, 2013.

KANG, G.; LI, G.; GUO, T. Molecular mechanism of salicylic acid-induced abiotic stress tolerance in higher plants. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 36, n. 9, p. 2287-2297, 2014.

KAVAMURA, V. N.; SANTOS, S. N.; SILVA, J. L. PARMA, M. M.; ÁVALIA, L. A. VISCONTI, A.; ZUCCHI, T. D.; TAKETANI, R. G.; ANDREOTE, F. D.; MELO, I. S. Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. **Microbiological Research**, v. 168, p. 183-191, 2013.

KIM, Y.H.; KWAK, S.S. The role of antioxidant enzymes during leaf development. In: GUPTA, S.D. Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants. Enfield: **Science Publishers**, p. 129-150, 2010.

KONRAD, M. L. F.; SILVA, J. A. B.; FURLANI, P. R.; MACHADO, E. C. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em seis cultivares de café sob estresse de alumínio. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 3, p. 339-347, 2005.

KUSS, A. V.; KUSS, V. V.; LOVATO, T., FLORES, M. L. Fixação de nitrogênio e produção de ácido indolacético *in vitro* por bactérias diazotróficas endolíticas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 10, p. 1459-1465, 2007.

LIN, CC.; JIH, P. J.; LIN, H. H.; LIN, J.S.; CHANG, L. L.; SHEN, Y. H.; JENG, S. T. Nitric oxide activates superoxide dismutase and ascorbate peroxidase to repress the cell death induced by wounding. **Plant Molecular Biology**. v. 77, p. 235-249, 2011.

LOCATO, V. et al. Reactive oxygen species and ascorbate glutathione interplay in signaling and stress responses. In: GUPTA, S.D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, p. 45-64, 2010.

MACHADO, R. S.; RIBEIRO, R. V.; MARCHIORI, P. E. R.; MACHADO, D. F. S. P.; MACHADO, E. C.; LANDELL, M. G. A. Respostas biométricas e fisiológicas ao

déficit hídrico em cana-de-açúcar em diferentes fases fenológicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 12, p. 1575-1582, 2009.

MAFAKHERI, A.; SIOSEMARDEH, A.; BAHRAMNEJAD, B.; STRUIK, P. C.; SOHRABI, Y. Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. **Australian journal of crop science**. v. 4, p. 580-585, 2010.

MAGALHÃES FILHO, J. R.; AMARAL, L. R.; MACHADO, D. F. S. P.; MEDINA, C. L.; MACHADO, E. C. Deficiência hídrica, trocas gasosas e crescimento de raízes em laranja 'valência' sobre dois tipos de porta-enxerto. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 1, p. 75-82, 2008.

MAIA, J. M.; FERREIRA-SILVA, S. L.; VOIGT, E. L.; MACEDO, C. E. C.; PONTE, L. F. A.; SILVEIRA, J. A. G. Atividade de enzimas antioxidantes e inibição do crescimento radicular de feijão caupi sob diferentes níveis de salinidade. **Acta Botanica Brasilica**, v. 26, n. 2, p. 342-349, 2012.

MAIA, P. S. P.; NETO, C. F. O.; CASTRO, D. S.; FREITAS, J. M. N.; LOBATO, A. K. S.; COSTA, R. C. L. Conteúdo relativo de água, teor de prolina e carboidratos solúveis totais em folhas de duas cultivares de milho submetidas a estresse hídrico. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 918-920, 2007.

MARCOS, F. C. C. IÓRIO, R. P. F.; SILVEIRA, A. P. D.; RIBEIRO, R. V.; MACHADO E. C.; LAGOA, A. M. M. A.; Endophytic bacteria affect sugarcane physiology without changing plant growth. **Bragantia**, v. 75, n. 1, p.1-9, 2016.

MARIN, A.; SANTOS, D. M. M.; BANZATTO, D. A.; CODOGNOTO, L. M. Influência da disponibilidade hídrica e acidez do solo nos teores de prolina livre de guandu. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 1, p. 355-358, 2006.

MARIN, J. A.; ANDREU, P.; CARRASCO, A.; ARBELOA, A. Determination of proline concentration, an abiotic stress marker, in root exudates of excised root cultures of fruit tree rootstocks under salt stress. **Revuedes Régions Arides**, número especial 24, 6 p., 2010.

MARQUES, D.J; BROETTO, F. SILVA, E. C. Concentração de prolina em folhas de plantas de berinjela cultivadas sobre condições de salinidade. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 2, p. 853-858, 2010.

MELO, A. P. **Avaliação da tolerância à seca em feijoeiro inoculado com rizóbio e bactérias diazotróficas endofíticas na presença de ácidos húmicos**. Campos dos Goytacazes, 2014. p. 70. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

MELO, E. B. S. **Translocação de nutrientes, trocas gasosas e produção de vagens em genótipos de amendoim cultivado sob duas fontes de nitrogênio**. (2013) p. 42. (Dissertação de mestrado). Programa da Pós-Graduação de Ciências Agrárias. Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande – PB.

MENDES, M. M. C.; CHAVES, L. F. C.; NETO, T. P. P SILVA, J. A. A.; FIGUEIREDO, M. V. B. Crescimento e sobrevivência de mudas de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.) inoculadas com micro-organismos simbiotes em condições de campo. **Ciência Florestal**, v. 23, n. 2, p. 309-320, 2013.

MENESES, C. H. S. G.; ROUWS, L. F. M.; SIMÕES-ARAÚJO, J. L.; VIDAL, M. S.; BALDANI, J. I. Exopolysaccharide production is required for biofilm formation and plant colonization by the nitrogen-fixing endophyte *Gluconacetobacter diazotrophicus*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 24, n. 12, p. 1448–1458, 2011.

Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), **Normas sobre especificações, garantias, registro, embalagem e rotulagem dos inoculantes destinados à agricultura**, (Instrução Normativa nº 13), p. 19, 2011.

MITTLER, R.; VANDERAUWERA, S.; GOLLERY, M.; VAN BREUSEGEM, F. Reactive oxygen gene network of plants, **Trends Plant Sci.** v. 9, p. 490-498, 2004.
MONTEIRO, J. G.; CRUZ, F. J. R.; NARDIN, M. B.; SANTOS, D. M. M. Crescimento e conteúdo de prolina em plântulas de guandu submetidas a estresse osmótico e à putrescina exógena. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 1, p. 18-25, 2014.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Editora UFLA. 2. ed. Lavras. p. 729, 2006.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, Kyoto, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

NANDA, A. K.; ANDRIO, E.; MARINO, D.; PAULY, N.; DUNAND, C. "Reactive oxygen species during plant-microorganism early interactions," **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 52, n. 2, p. 195–204, 2010.

NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.; OYA, T. Tolerância à seca em plantas: mecanismos fisiológicos e moleculares. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, n. 23, p. 12-18, 2001.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; MELO FILHO, P. A.; CARVALHO, R.; ALBUQUERQUE, M. B.; SANTOS, R. C. Comportamento estomático e potencial da água da folha em amendoim cv. BRS 151 – L7 submetido a estresse hídrico. **Revista Brasileira Oleaginosas e Fibrosas**, v. 10, n. 1/2, p. 985-991, 2006.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; TÁVORA, F. J. A. F. Ecofisiologia do amendoim (*Arachis hypogaea* L.). In: SANTOS, R. C. (ed.). **O agronegócio do amendoim no Brasil**. 1. ed. Campina Grande: Embrapa Algodão, p. 71-122, 2013.

PADMAVATHI, T. A. V.; RAO, D. M. Differential accumulation of osmolytes in 4 cultivars of peanut (*Arachis hypogaea* L.) under drought stress. **Journal Crop Science Biotechninology**, n. 16, v. 2, p. 151-159, 2013.

PASSARDI, F.; PENEL, C. & DUNAND, C. Performing the paradoxical: how plant peroxidases modify the cell wall. **Trends in Plant Science**, v. 9, p. 534-540, 2004.

PATRA, R.K.; PANT, L.M.; PRADHAN, K. Response of soybean to inoculation with rhizobial strains: effect on growth, yield, N uptake and soil N status. **World Journal of Agricultural Sciences**, v. 8, n. 1, p. 51-54, 2012.

PAULUCCI, N. S.; GALLARATO, L. A.; REGUERA, Y. B.; VICARIO, J. C.; CESARI, A. B.; LEMA, M. B. G.; DARDANELLI, M. S. *Arachis hypogaea* PGPR isolated from Argentine soil modifies its lipid components in response to temperature and salinity. **Microbiological Research**, n. 173, p. 1-9, 2015.

PEIXOTO, M.S.F.P.; PEIXOTO, C.C.; SAMPAIO, L.S.V.; SAMPAIO, H.S.V.; SOUZA, R.A.S.; ALMEIDA, J.R.C. Ação do herbicida alachlor na microbiota do solo, nodulação e rendimento de plantas de amendoim. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 9, n. 2, p. 60-70, 2010.

PENG, C.L.; OU, Z.Y.; LIU, N.; LIN, G.Z. Response to high temperature in flag leaves of super high-yielding rice Pei'ai 64S/E32 and Liangyoupeijiu, **Rice Science**, v. 12, p. 179-186, 2005.

PEREIRA, J. W. L.; MELO FILHO, P. A.; ALBUQUERQUE, M. B.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; SANTOS, R. C. Mudanças bioquímicas em genótipos de amendoim submetidos a déficit hídrico moderado. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 4, p. 766-773, 2012.

PÉREZ-MONTAÑO, F.; ALÍAS-VILLEGAS, C.; BELLOGÍN, R. A.; DEL CERRO, P.; ESPUNY, M. R.; JIMÉNEZ-GUERRERO, I.; LÓPEZ-BAENA, F. J.; OLLERO, F. J.; CUBO T. Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: From microorganism capacities to crop production. **Microbiological Research**, v. 169, p. 325–336, 2014.

PILON, M.; RAVET, K.; TAPKEN, W. The biogenesis and physiological function of chloroplast superoxide dismutases. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1807, n. 8, p. 989–998, 2011.

PIMENTEL, C.; **A relação da planta com a água**. Serpédica, RJ: **Edur – Editora Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**, p. 191, 2004.

QUEIROZ, R. J. B. **Quantificação da trealose e da prolina livre em cana-de-açúcar sob efeito da disponibilidade hídrica do solo**. Jaboticabal, SP, 2006. p. 70. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

RIBEIRO, I. L. A. C. **Proteômica de cana-de-açúcar em condição de estresse hídrico**. Recife, PE, 2010, p. 128. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Federal de Pernambuco

SAED-MOUCHESHI, A.; PAKNIYAT, H.; PIRASTEH-ANOSHEH, H.; AZOOZ, M. M. Role of ROS as Signaling Molecules in Plants. **Antioxidant Networks and Signaling**, p. 585–620, 2014.

SANKAR, B.; ABDUL JALEEL, C. A.; MANIVANNAN, P.; KISHOREKUMAR, A.; SOMASUNDARAM, R.; PANNEERSELVAM, R. Effect of paclobutrazol on water stress amelioration through antioxidants and free radical scavenging enzymes in *Arachis hypogaea* L. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 60, p. 229–235, 2007.

SANTOS NETO, J. T.; LUCAS, F. T.; FRAGA, D. F.; OLIVEIRA, L. F.; PEDROSO NETO, J. C. Adubação nitrogenada, com e sem inoculação de semente, na cultura da soja. **FAZU em Revista**, v. 10, p. 8-12, 2013.

SANTOS, C. E. R. S.; STAMFORD, N. P.; BORGES, W. L.; NEVES, M. C. P.; RUNJANEK, N. G.; NASCIMENTO, L. R.; FREITAS, A. D. S.; VIEIRA, I. M. M. B.; BEZERRA, R. V. Faixa hospedeira de rizóbios isolados das espécies de *Arachis hypogaea*, *Stylosanthes guyanensis*, *Aeschynomene americana*. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 2, n. 1, p. 20-27, 2007a.

SANTOS, C. E. R. S.; STAMFORD, N. P.; NEVES, M. C. P.; RUNJANEK, N. G.; BORGES, W.L.; BEZERRA, R. V.; FREITAS, A. D. S. Diversidade de rizóbios capazes de nodular leguminosas tropicais. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 2, n. 4, p. 249-256, 2007b.

SANTOS, L. A.; REIS, V. M. A formação do nódulo em leguminosas. **Documentos/Embrapa Agrobiologia**. Seropédica, n. 251, p. 14, 2008.

SANTOS, R. C.; FREIRE, R. M. M.; SUASSUNA, T. M. F.; REGO, G. M. BRS Havana: nova cultivar de amendoim de pele clara. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 8, p. 1337-1339, 2006.

SANTOS, R. C.; NOGUEIRA, R. J. M. C. Alterações fisiológicas no amendoim submetido ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v. 4, n. 1, p. 41-45, 2000.

SANTOS, R. F.; SILVA, M. A.; KLAR, A. E.; GALANT, N. B.; OLIVEIRA, C. V. V.; SAMPAIO, M. C.; SANTOS, R. K. Genótipos de *Carthamus tinctorius* L. em cultivo irrigado e sob sequeiro. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 4, p. 146-160, 2015.

SCHOCK, A. A.; RAMM, A.; MARTINAZZO, E. G.; SILVA, D. M.; BACARIN, M. A. Crescimento e fotossíntese de plantas de pinhão-mansão cultivadas em diferentes condições de luminosidade. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n. 1, p. 3-9, 2014.

SHARMA, P. et al. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**. p. 1-26, 2012.

SHIMAZAKI, K. I. et al. Light regulation of stomatal movement. **Annual Review of Plant Biology**, Gainesville, v. 58, n. 1, p. 219-247, 2007.

SILVA, F. C. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. - 2. ed. rev. ampl. - Brasília, DF : **Embrapa Informação Tecnológica**, p.627, 2009.

SILVA, F. G.; DUTRA, W. F.; DUTRA, A. F.; OLIVEIRA, I. M.; FILGUEIRAS, L. M. B.; MELO, A. S. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em plantas de berinjela sob lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, n. 10, p. 946-952, 2015.

SILVA, R. P.; SANTOS, C. E.; LIRA JÚNIOR, M. A.; STAMFORD, N. P. Efetividade de estirpes selecionadas para feijão caupi em solo da região semiárida do sertão da Paraíba. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 3, n. 2, p. 105-110, 2008.

SILVEIRA, P. S.; PEIXOTO, C. P.; SANTOS, W. J.; SANTOS, I. J.; PASSOS, A. R.; BLOISI, A. M. Teor de proteína e óleo de amendoim em diferentes épocas de semeadura e densidades de plantas. **Revista da FZVA**. Uruguaiana, v. 18, n. 1, p. 34-45. 2011.

SOARES, A. M. S.; MACHADO, O.L.T. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 1, n. 1, p. 9, 2007.

SONGSRI, P.; JOGLOY, S.; JUNJITTAKARN, J.; KESMALA, T.; VORASOOT, N.; HOLBROOK, C. C.; PATANOTHAI, A. Association of stomatal conductance and root distribution with water use efficiency of peanut under different soil water regimes. **Australian Journal of Crop Science**, v. 7, p. 948-955, 2013.

SOUZA, C. C. M. **Influência do estresse hídrico e da compactação do solo na associação nematóide, rizobactérias e fungos micorrízicos arbusculares**. Recife, PE, 2013. 137 p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal Rural de Pernambuco.

SOUZA, D. M.; GARCIA-CRUZ, C. H.; Produção fermentativa de polissacarídeos extracelulares por bactérias. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 25, n. 4, p. 331-340, 2004.

SOUZA, L. A. G.; NETO, E. B.; SANTOS, C. E. R. S.; STAMFORD, N. P. Desenvolvimento e nodulação natural de leguminosas arbóreas em solos de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 2, p. 207-217, 2007.

SUASSUNA, J. F. **Tolerância de genótipos de citros ao estresse hídrico na fase de formação de porta-enxerto**. Campina Grande. 2011. p. 96, Dissertação de mestrado. Programa de pós-graduação em engenharia agrícola, área de concentração irrigação e drenagem, Universidade Federal de Campina Grande.

SUDACHKOVA, N.E.; MILYUTINA, I.L.; SEMENOVA, G.P. Influence of water deficit on contents of carbohydrates and nitrogenous compounds in *Pinus sylvestris* L. and *Larix sibirica* Ledeb. **Eurasian Journal of Forest Research**, v. 4, p. 1-11, 2002.

SZABADOS, L.; SAVOURÉ, A. Proline: a multifunctional amino acid. **Trends in Plant Science**, v. 15, p. 89-97, 2010

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3^a ed.: Artmed Porto Alegre, 2006. p. 719.

TARABORRELLI, D.; LAWRENCE, M.G.; CROWLEY, J.N.; DILLON, T.J.; Gromov, S.; Gross, C.B.M.; Vereecken, L.; Lelieveld, J. Hydroxyl radical buffered by isoprene oxidation over tropical forests, **Nature Geoscience**, v. 5, p. 190–193, 2012.

United States Department of Agriculture (USDA). Disponível em: <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/psdQuery.aspx>. Acesso em: 15 de março de 2016.

VACHERON, J.; DESBROSSES, G.; BOUFFAUD, M. L.; TOURAINE, B.; MOËNNE-LOCCOZ, Y.; MULLIR, D.; LEGENDRE, L.; WISNIEWSKI-DYÉ, F.; PRIGENT-COMBARET, C. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. **Frontiers in Plant Science/Functional Plant Ecology**, v. 4, p. 166-194, 2013.

VARDHARAJULA, S.; ALI, A. Z.; GROVER, M.; REDDY, G.; BRANDI, V. Drought-tolerant plant growth promoting *Bacillus* spp.: effect on growth, osmolytes, and antioxidant status of maize under drought stress. **Journal of Plant Interactions**, v. 6, v. 1, p. 1-14, 2011.

VICENT, J. M. **A manual for the practical study of nodule bacteria**. Oxford: Blackwell Science Publication, 1970.

YAMADA, M.; MORISHITA, H.; URANO, K.; SHIOZAKI, N.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K.; YOSHIBA, Y. Effects of free proline accumulation in petunias under drought stress. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 56, p. 1975-1981, 2005.

YAN, W.; ZHONG, Y.; SHANGGUAN, Z. A meta-analysis of leaf gas exchange and water status responses to drought. **Scientific Reports**, v. 6, 2016.