



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

LAYSLA LOPES NUNES

**AÇÃO MITIGADORA DE RIZOBACTÉRIAS CONTRA OS EFEITOS
NEGATIVOS DO ESTRESSE HÍDRICO EM AMENDOIM (*Arachis
hypogaea* L.)**

**CAMPINA GRANDE-PB
2022**

LAYSLA LOPES NUNES

**AÇÃO MITIGADORA DE RIZOBACTÉRIAS CONTRA OS EFEITOS
NEGATIVOS DO ESTRESSE HÍDRICO EM AMENDOIM (*Arachis
hypogaea* L.)**

Trabalho de Conclusão de Curso de Ciências
Biológicas em cumprimento às exigências para
obtenção do título de Licenciada em Ciências
Biológicas.

Área de concentração: Fisiologia de plantas
cultivadas.

Orientador: Prof. Dr. Alberto Soares de Melo

CAMPINA GRANDE - PB

É expressamente proibido 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 do trabalho.

N972A Nunes, Laysla Lopes.

Ação mitigadora de rizobactérias contra os efeitos negativos do estresse hídrico em amendoim (*Arachis hypogaea* L.) [manuscrito] / Laysla Lopes Nunes. - 2022.

33 p.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2022.

"Orientação : Prof. Dr. Alberto Soares de Melo ,
Coordenação de Curso de Biologia - CCBS."

1. Déficit hídrico. 2. Fisiologia vegetal. 3. *Arachis hypogaea*
L. I. Título

21. ed. CDD 571.2

LAYSLA LOPES NUNES

**AÇÃO MITIGADORA DE RIZOBACTÉRIAS CONTRA OS EFEITOS
NEGATIVOS DO ESTRESSE HÍDRICO EM AMENDOIM (*Arachis
hypogaea* L.)**

Trabalho de Conclusão de Curso de Ciências
Biológicas em cumprimento às exigências para
obtenção do título de Licenciada em Ciências
Biológicas.

Área de concentração: Fisiologia de plantas
cultivadas.

Aprovado em: 02/08/2022.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Alberto Soares de Melo - Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Dr.ª Liziane Maria de Lima - Embrapa Algodão



Dr. Sergio de Farias Lima - Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

À minha mãe, Genilda, pela dedicação e apoio ao longo da vida, DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por toda força que me fez chegar até aqui, por não me deixar desistir em meio a tantas dificuldades.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo apoio financeiro para o desenvolvimento dessa pesquisa.

Agradeço à minha Coorientadora, Dra. Liziane Maria de Lima, pela oportunidade de participar de seus projetos de pesquisa, os quais me ensinaram muito, esses ensinamentos levarei comigo por toda a vida. Gratidão por tudo!

Ao meu orientador Dr. Alberto Soares de Melo pela contribuição e orientação para a realização deste trabalho.

Aos colegas de Laboratório de biotecnologia que me ajudaram muito, Bruno, Terê, Érika, Fábria, Dra. Geisenilma Rocha, em especial, a Edson pela parceria nesse projeto.

Aos colegas de curso, por todos os momentos compartilhados durante esta jornada, em especial, Leandro Nascimento, Steffany Galisa, Adrielly Karoliny e Maria Eduarda.

Agradeço à minha mãe, Genilda Flôr, a quem dediquei este trabalho e todo o resto, a pessoa mais importante na minha vida.

A Sergio de Farias Lopes e Liziane Maria de Lima, obrigada pela participação na banca e pelas sugestões de melhoria ao trabalho.

À Universidade Estadual da Paraíba e seus profissionais que contribuíram com minha formação.

E todos que fizeram parte da minha trajetória, meus mais sinceros agradecimentos.

RESUMO

O déficit hídrico pode levar a sérios problemas fisiológicos e bioquímicos nas plantas de amendoim (*Arachis hypogaea* L.), resultando em perdas significativas no rendimento da colheita. O amendoim tem capacidade de associar-se eficientemente com diferentes rizóbios e tem sido uma alternativa para minimizar danos causados por estresses abióticos. Objetivou-se com este estudo avaliar a interação de isolados de *Bradyrhizobium* spp. com genótipos de amendoim sob condições de déficit hídrico, por meio de análises fisiológicas e de crescimento vegetativo. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, localizada na Embrapa Algodão, com delineamento experimental inteiramente casualizado, com arranjo fatorial 2 x 6 x 2 e cinco repetições, sendo: dois genótipos de amendoim (cultivares BRS 421 e BRS 423); seis tratamentos: com nitrogênio (N) (2 g de sulfato de amônio/vaso), sem N (testemunha), quatro inoculantes (SEMIA 6144, ESA 123, 16295 e 16986) e dois regimes hídricos (com e sem estresse). Foi utilizado vasos com capacidade para 5 L, preenchido com solo de textura média e fertilidade ajustada de acordo com as recomendações da cultura. Vinte e cinco dias após a emergência (DAE), a rega foi suspensa por 10 dias para as plantas do grupo estressado. Durante esse período, as plantas foram submetidas a análises fisiológicas tais como, taxa de assimilação de CO₂, fotossíntese líquida, concentração interna de CO₂, condutância estomática, transpiração e a partir desses dados calculou-se a eficiência instantânea da carboxilação e a eficiência do uso da água. Para isso foi utilizado um analisador portátil (IRGA - Infra Red Gas Analyzer). Ao final do experimento foram realizadas análises agronômicas (altura da planta, massa seca da parte aérea e das raízes, número e peso dos nódulos) e coletadas amostras de folha para a análise de nitrogênio, baseada no método de digestão sulfúrica desenvolvido por Kjeldahl. Todos os dados coletados foram analisados pelo programa estatístico SISVAR versão 5.6, os quais foram submetidos à comparação de médias pelo Teste de Tukey com 5% de significância. Considerando uma análise geral, observou-se que as estirpes SEMIA 6144 e 16295 promoveram maior crescimento para a cultivar BRS 421, enquanto as estirpes 16295 e a testemunha nitrogenada foram mais efetivas para a cultivar BRS 423. Embora alguns tratamentos inoculados com as estirpes de bactérias tenham apresentado resultados próximos a testemunha nitrogenada, é um dado importante a ser analisado, já que as estirpes supostamente competiram com bactérias nativas do solo, e ainda assim apresentaram resultados próximo a testemunha nitrogenada, o que levaria a possível substituição de fertilizantes nitrogenados na agricultura, já que o mesmo tem um custo elevado para o meio ambiente e para o produtor.

Palavras-chave: Leguminosa. Restrição hídrica. Fixação biológica de nitrogênio.

ABSTRACT

Water deficit can lead to serious physiological and biochemical problems in peanut plants (*Arachis hypogaea* L.), resulting in significant losses in crop yield. Peanuts are able to efficiently associate with different rhizobiums and have been an alternative to minimize damage caused by abiotic stresses. The objective of this study was to evaluate the interaction of *Bradyrhizobium* spp isolates. with peanut genotypes under water deficit conditions, through physiological analyses and vegetative growth. The experiment was conducted in a greenhouse, located in Embrapa Algodão, PB. The experimental design was completely randomized, with factorial arrangement 2 x 6 x 2 and five replications, being: two peanut genotypes (cultivars BRS 421 and BRS 423); six treatments: with nitrogen (2 g ammonium sulfate/vessel), without N (control), four inoculants (Semia 6144, ESA 123, 16295 and 16986) and two water regimes (with and without stress). Pots with capacity for 5 L were used, filled with soil of medium texture and fertility adjusted according to the recommendations of soil analysis. Twenty-five days after emergence (DAE), watering was suspended for 10 days for the plants of the stressed group. During this period, the plants were submitted to physiological analyses (CO₂ assimilation rate, liquid photosynthesis, internal CO₂ concentration, stomatic conductance, transpiration and from these data we calculated the instantaneous efficiency of carboxylation and the efficiency of water use) using a portable analyzer (IRGA - Infra Red Gas Analyzer). At the end of the experiment, agronomic analyses (plant height, shoot and root dry mass, number and weight of nodules) were performed and leaf samples were collected for nitrogen analysis, based on the sulfuric digestion method developed by Kjeldahl. All collected data were analyzed by the statistical program SISVAR version 5.6, which were submitted to the comparison of means by the Tukey Test with 5% significance. Considering a general analysis, it was observed that the SEMIA 6144 and 16295 strains promoted greater growth for the BRS 421 cultivar, while the 16295 strains and the nitrogen control were more effective for the BRS 423 cultivar. presented results close to the nitrogen control, it is an important data to be analyzed, since the strains supposedly competed with native soil bacteria, and still presented results close to the nitrogen control, which would lead to the possible replacement of nitrogen fertilizers in agriculture, since it has a high cost for the environment and for the producer.

Keywords: Legumes. Water restriction. Biological nitrogen fixation.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Análise dos componentes físico-químicos do solo (Laboratório de Solos e Nutrição de Plantas. Embrapa Algodão, Campina Grande, PB, 2020)15
- Tabela 2** – Resumo da análise de variância para as variáveis de altura de planta (ALT), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), número de nódulos (NNOD), massa de nódulos (MNOD) e nitrogênio na parte aérea (NAPA), Campina Grande- PB, 2021.....19
- Tabela 3** – Médias obtidas para as variáveis altura de planta (ALT) (cm), massa seca da parte aérea (MSPA) (g), massa seca da raiz (MSR) (g), para os genótipos BRS 421 e BRS 423, obtidos da interação tripla GEN X RH X TRAT, Campina Grande- PB, 2021.....21
- Tabela 4** – Médias obtidas para as variáveis número de nódulos (NNOD), massa de nódulos (MNOD) (g) e nitrogênio na parte aérea (NAPA), para os genótipos BRS 421 e BRS 423, obtidos da interação tripla GEN X RH X TRAT, Campina Grande- PB, 2021.....22
- Tabela 5** – 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 (A/Ci), eficiência do uso da água (EUA) relação entre (A/E), Campina Grande-PB, 2021.....22

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Montagem do experimento em casa de vegetação, vasos com capacidade para 5 L (Campina Grande, PB, 2021)	15
Figura 2 – Aplicação do inoculante a base de <i>Bradyrhizobium</i> no momento da semeadura (Campina Grande, PB, 2020)	16
Figura 3 – Genótipo BRS 423 inoculado com a estirpe ESA 123 apresentando a formação de nódulos nas raízes (Campina Grande, PB, 2020)	18
Figura 4 – Novo experimento montado, com 14 dias após a germinação (Campina Grande, PB, 2021)	18
Figura 5 – Evolução do segundo experimento montado, com 23 dias após a germinação (Campina Grande, PB, 2021)	19
Figura 6 – Medidas de trocas gasosas, concentração interna de carbono (CI). Significativo difere as letras: letras gregas entre os genótipos, letras maiúsculas comparando as médias nas linhas entre os tratamentos, letras minúsculas nas colunas comparando os regimes (Teste de Tukey, $p < 0,05$)	23
Figura 7 – Medidas de trocas gasosas, Transpiração (E). Significativo difere as letras: letras gregas entre os genótipos, letras maiúsculas comparando as médias nas linhas entre os tratamentos, letras minúsculas nas colunas comparando os regimes (Teste de Tukey, $p < 0,05$)	24
Figura 8 – Medidas de trocas gasosas, fotossíntese (A). Significativo difere as letras, letras gregas entre os genótipos, letras maiúsculas comparando as médias nas linhas entre os tratamentos, letras minúsculas nas colunas comparando os regimes, (Teste de Tukey, $p < 0,05$)	25
Figura 9 – Medidas de trocas gasosas, condutância estomática (gs). Significativo difere as letras, letras gregas entre os genótipos, letras maiúsculas comparando as médias nas linhas entre os tratamentos, letras minúsculas nas colunas comparando os regimes, (Teste de Tukey, $p < 0,05$)	25
Figura 10 – Medidas de trocas gasosas, eficiência instantânea da carboxilação (EiC). Significativo difere as letras, letras gregas entre os genótipos, letras maiúsculas comparando as médias nas linhas entre os tratamentos, letras minúsculas nas colunas comparando os regimes, (Teste de Tukey, $p < 0,05$)	26
Figura 11 – Medidas de trocas gasosas, eficiência do uso da água (EUA). Significativo difere as letras, letras gregas entre os genótipos, letras maiúsculas comparando as médias nas linhas entre os tratamentos, letras minúsculas nas colunas comparando os regimes, (Teste de Tukey, $p < 0,05$)	28

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	REVISÃO DE LITRATURA.....	12
2.1	O amendoim e sua importância econômica.....	12
2.2	Déficit hídrico em plantas de amendoim.....	13
2.3	Fixação biológica de nitrogênio.....	13
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	15
3.1	Condições do experimento.....	15
3.2	Cultivo dos isolados de rizóbios.....	15
3.3	Implantação e condução do experimento.....	16
3.4	Trocas gasosas.....	16
3.5	Variáveis de crescimento vegetativo.....	17
3.6	Análise de nitrogênio.....	17
3.7	Análise estatística.....	18
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
4.1	Variáveis vegetativas.....	19
4.1.1	Altura, massa seca da raiz e massa seca da parte aérea.....	20
4.1.2	Número de nódulos e massa seca de nódulos.....	21
4.1.3	Nitrogênio na parte aérea.....	22
4.2	Trocas gasosas.....	22
4.2.1	Carbono interno.....	23
4.2.1	Transpiração.....	24
4.2.2	Fotossíntese.....	25
4.2.3	Condutância estomática.....	26
4.2.4	Eficiência instantânea da carboxilação.....	26
4.2.5	Eficiência do uso da água.....	27
5	CONCLUSÃO.....	29
	REFERÊNCIAS.....	30

1 INTRODUÇÃO

A demanda mundial por alimentos vem crescendo cada vez mais ao longo dos anos e estimativas da Organização das Nações Unidas (ONU), indicam que para 2050 a demanda global pode sofrer um crescimento de 60% em relação ao ano de 2015. Isto, devido ao crescimento populacional que neste século estima-se chegar a 9,2 bilhões de pessoas (MUTEIA, 2015). Diante desta realidade as preocupações em torno do aumento na produção de alimentos se tornam ainda maiores em função dos adventos climáticos. Para superar as dificuldades advindas do crescimento populacional e das estimativas traçadas acerca da demanda mundial por alimentos, as mudanças climáticas, ligadas à escassez de água, leva o setor agrícola buscar por adoção de novas tecnologias, além da otimização no uso dos recursos hídricos e seleção de cultivares mais eficiente no uso de água. Este cenário traz novos desafios aos programas de melhoramento de plantas para o desenvolvimento de cultivares mais adaptados a condições adversas.

A água é um componente chave na manutenção da vida, atua como solvente universal e como transportador de gases, elementos e substâncias, essenciais para os animais e plantas (RODRIGUES et al., 2016). É de suma importância na agricultura, estando presente em grande parte das reações de transformação de energia e produção de alimento (TAIZ et al., 2017). Logo, a carência dela afeta consideravelmente o desenvolvimento fisiológico e nutricional das plantas, conseqüentemente provoca a diminuição da biomassa e do crescimento. Além do mais, a seca induz o fechamento estomático que reduz as trocas gasosas e diminui a fotossíntese (ARBONA et al., 2013; IHUOMA e MADRAMOOTOO, 2017).

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). Assim, 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).

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é a quarta leguminosa mais cultivada no mundo. No Brasil seu cultivo é bastante difundido, cultivado principalmente nas regiões Sudeste, Sul, Centro-Oeste e Nordeste, sendo o Estado de São Paulo o maior produtor, responsável por mais de 90% da produção nacional, com volume estimado em 562,3 mil toneladas de amendoim em casca, 7,2% a mais na comparação com o ciclo anterior em que foram colhidas 524,5 mil

toneladas (CONAB, 2021). Embora a cultura venha conquistando espaço na região Nordeste e Centro-Oeste, em razão da adoção de tecnologias que favorecem a melhoria no sistema de cultivo (CONAB, 2021), há limitação na irrigação.

Nesse contexto, objetivou-se com este trabalho observar se a interação de isolados de *Bradyrhizobium* sp. com genótipos de amendoim pode mitigar o efeito do déficit hídrico, a partir de análises fisiológicas e de crescimento vegetativo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O amendoim e sua importância econômica

O amendoim é uma planta oleaginosa, dicotiledônea, anual, herbácea, ramificada, pertencente ao grupo das Fabaceae, considerada como uma importante fonte proteica e energética, com amplas possibilidades de aproveitamento na indústria alimentícia. Além disso, essa leguminosa permite a recuperação do solo por meio da fixação biológica de nitrogênio, nutrindo a terra de forma indireta, trazendo certa economia para os produtores, bem como entrega um solo bastante enriquecido para as culturas sucessivas (CONAB, 2020). Além de ser utilizada como fonte de alimento e na obtenção de produtos derivados utilizados pelas indústrias farmacêutica e cosmética, é também uma cultura com baixas exigências nutricionais, quando comparada a outras leguminosas, pois extrai quantidades menores de macronutrientes primários como nitrogênio, fósforo e potássio (BOLONHEZI et al., 2013).

No Brasil, seu cultivo é bastante expandido nas regiões Sul e Sudeste, sendo o estado de São Paulo o maior produtor, grande parte dessa produção paulista é destinada ao mercado Europeu, sendo o restante consumido internamente pelas fábricas de doces (CONAB, 2021). Dados divulgados recentemente no somatório brasileiro sinalizam que a atual safra do amendoim 2021/22 teve um crescimento de 15,9% na área em relação à safra passada, uma produção de 700,5 mil toneladas, 17,4% maior que a safra anterior, com um incremento de 1,2% na produtividade (CONAB, 2022).

É uma leguminosa que possui benefícios econômicos significativos e um aumento gradual em área plantada nos últimos anos (CONAB, 2017). Todavia, a produção e qualidade do amendoim são desfavoravelmente afetados por estresses ambientais, como climas extremos, salinidade, seca e estresse oxidativo. Essas circunstâncias provocam modificações fisiológicas que resultam em alterações metabólicas, prejudicando o crescimento e a produtividade (KALARIYA et al., 2013). Logo, devido ao crescimento populacional estimado em 30% até 2050 será necessário cada vez mais a intensificação da agricultura em áreas cultiváveis, precisando ter produtividades maiores que as atuais (MARIN et al., 2016).

2.2 Déficit hídrico em plantas de amendoim

A água é um componente chave na manutenção da vida, atuando como solvente universal e como transportador de gases, elementos e substâncias, essenciais para os animais e plantas (RODRIGUES et al., 2016). É de suma importância na agricultura, e está presente em

grande parte das reações de transformação de energia e produção de alimento (TAIZ et al., 2017). Dentre os estresses abióticos, o déficit hídrico é um dos fatores que mais afeta a cultura do amendoim, que apesar de sua adaptação a seca, durante os períodos de seca prolongada em ambientes semiáridos como no Nordeste brasileiro podem provocar alterações fisiológicas e bioquímicas severas, as quais se tornam responsáveis por perdas na produção. Dentre as alterações fisiológicas na planta como 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 em nível celular (TAIZ et al., 2017). Em níveis morfológicos, o estresse hídrico provoca redução da área foliar, número de folhas, altura da planta e massa seca de folhas e raízes. Na frutificação, a deficiência hídrica resulta em formação de grãos com menor peso específico ou até mesmo o não preenchimento dos grãos, diminuindo a produção (SANTOS e REIS, 2018).

O amendoim é uma oleaginosa conhecida por apresentar potencial para se desenvolver em áreas com menor disponibilidade hídrica, demonstrando, assim, certa tolerância a seca (PEREIRA et al., 2012). Essa “habilidade” está relacionada principalmente ao fato das plantas de amendoim apresentarem raízes com capacidade de aprofundar até dois metros e extrair água de partes mais profundas do solo. Contudo, em uma situação de deficiência hídrica, alguns parâmetros como conteúdo relativo de água, potencial hídrico foliar, resistência estomática, taxa de transpiração, temperatura foliar e temperatura do dossel são influenciados nas relações hídricas (KAMBIRANDA et al., 2011). Quando esses parâmetros são afetados, as respostas morfológicas e fisiológicas são modificadas, promovendo menor crescimento e desenvolvimento das plantas e, conseqüentemente, diminuição da produtividade. Bartels e Sunkar (2005) ressaltaram que o estresse hídrico gera diminuição do crescimento, devido ao fechamento dos estômatos, menor assimilação de CO₂, síntese de fotoassimilados, redução da área foliar, além de uma redução da eficiência fotossintética.

2.3 Fixação biológica de nitrogênio (FBN)

O nitrogênio desempenha papel fundamental na obtenção de altas produtividades, onde ocupa posição de destaque na nutrição mineral de plantas. E apesar de sua abundância na atmosfera, é o nutriente mais limitante ao crescimento das plantas, isso por que o N₂ presente na atmosfera não pode ser utilizado pela maioria dos organismos (VIEIRA, 2017). Cerca de 78% da atmosfera é composta por N₂, contudo, é necessário que o N₂ presente na atmosfera seja disponibilizado para as plantas. A fixação biológica do nitrogênio é a principal fonte de disponibilização desse N₂ às plantas, esse processo é realizado por alguns procariontes, que tem

a capacidade de reduzir o N_2 em amônia, que segue o ciclo até ser reduzido em outras formas que são absorvidas pelas plantas (TAIZ & ZEIGER, 2013).

O nitrogênio é um elemento essencial para as plantas, fazendo parte da constituição estrutural de aminoácidos, proteínas e ácidos nucléicos, como não é assimilável por alguns grupos de vegetais, a exemplo das leguminosas e gramíneas, é necessária 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).

Essa 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 uso de fertilizantes nitrogenados apresenta uma forma assimilada com maior rapidez pelas plantas, entretanto com custo elevado tanto para o meio ambiente quanto para o produtor. O processo industrial que transforma o N_2 em amônia (NH_3), composto utilizado pelas plantas, requer hidrogênio (derivado de gás de petróleo), catalisador contendo ferro, altas temperaturas (300° a $600^\circ C$) e altas pressões (200 a 800 atm) na sua produção, processo esse chamado de Haber-Bosch. Desse modo, o gasto de fontes energéticas por tonelada de amônia sintetizada é de, aproximadamente, seis barris de petróleo. Um agravante na utilização dos fertilizantes nitrogenados reside na baixa eficiência de sua utilização pelas plantas, raramente ultrapassando 50%, pois grande parte é perdido pelos processos de lixiviação e transformação em formas gasosas tanto pela desnitrificação quanto pela volatilização (HUNGRIA et al., 2007).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Condições do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Embrapa Algodão, localizada em Campina Grande, PB (07°13'S; 53°31'W). Utilizou-se vasos com capacidade para 5 L (Figura 1), preenchidos com solo franco arenoso, sendo este previamente analisado no Laboratório de Solos da Embrapa Algodão (Tabela 1) e corrigido antes da semeadura, conforme a necessidade da cultura. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com um arranjo fatorial de 2 x 6 x 2, com cinco repetições, sendo: dois genótipos de amendoim (cultivares BRS 421 e BRS 423); seis tratamentos: com nitrogênio (N) (2 g de sulfato de amônio/vaso), sem N (testemunha absoluta), quatro inoculantes (SEMIA 6144, ESA 123, 16295 e 16986) e dois regimes hídricos (com e sem estresse).

Tabela 1. Análise dos componentes físico-químicos do solo. pH – Concentração de hidrogênio em solução do solo; Ca⁺² - Cálcio; Mg⁺² - Magnésio; Na⁺ Sódio; K⁺ - Potássio; S - enxofre; H+Al - Acidez potencial ou total; T – Capacidade de troca catiônica (CTC) subtraída da soma de bases (SB) mais o alumínio (Al); Al⁺³ – Acidez trocável; P – Fósforo; M.O. – Matéria orgânica.

Fertilidade do solo											
pH	Complexo Sortivo (mmolc/dm ³)						T	%	mmolc/dm ³	mg/dm ³	g/kg
	Ca ⁺²	Mg ⁺²	Na ⁺	K ⁺	S	H+Al					
5,7	26,9	18,6	1,5	3,1	50,1	14,9	60,0	77,1	0,5	50,4	14,8

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Figura 1. Montagem do experimento em casa de vegetação, vasos com capacidade para 5 L



Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

3.2 Cultivo dos isolados de rizóbios

No preparo dos inoculantes, as bactérias foram inicialmente cultivadas em placas de Petri em meio sólido contendo “Yeast Extract Malt Agar”, YMA (glicose 1%, ágar 2%, peptona 0,5%, malte 0,3%, extrato de levedura 0,3%), e incubadas por cinco dias a 28 °C em incubadora BOD. Em seguida, foram inoculadas em meio YMA líquido a 28 °C, sob agitação de 150 rpm, por aproximadamente 7 dias, até o final da fase exponencial de crescimento das bactérias, quando se tinha $1,0 \times 10^9$ UFC/mL.

3.3 Implantação e condução do experimento

As sementes de amendoim foram submetidas a desinfestação com etanol puro por 30 segundos, hipoclorito de sódio 1% por 3 minutos e por fim, foram lavadas 10 vezes com água destilada estéril para retirada de qualquer tipo de resíduo. Após esse processo, as sementes foram tratadas com fungicida Standark top. No momento da semeadura foram colocadas duas sementes de cada cultivar por vaso e aplicado 1 mL do inoculante/ semente, sendo uma aplicação no momento da semeadura (Figura 2) e outra após 15 dias. A irrigação foi realizada uma vez ao dia, durante um período de 25 dias, em seguida, as plantas foram submetidas a restrição hídrica por 10 dias, irrigando apenas as plantas controle.

Figura 2. Aplicação do inoculante a base de *Bradyrhizobium* no momento da semeadura



Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

3.4 Trocas gasosas

A restrição hídrica promove diferentes respostas na atividade das plantas. Desta forma, a avaliação das trocas gasosas representa uma importante ferramenta para elucidar os mecanismos utilizados pelas plantas quando submetidas ao déficit hídrico, assim, quando as

plantas foram submetidas a restrição hídrica, foram feitas três leituras no período da manhã entre 9:00 e 11:00 horas, utilizando o equipamento 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 , fotossíntese líquida (A), concentração interna de CO_2 (C_i), condutância estomática (gs) e transpiração (E) e a partir desses dados calculou-se a eficiência instantânea da carboxilação (E_iC) realizada a partir da relação (A/ C_i) e a eficiência do uso da água calculada a partir da relação entre (A/E) (MAGALHÃES FILHO et al., 2008).

3.5 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 $65 \text{ }^\circ\text{C}$, durante 72 horas até atingir peso constante, após a secagem o material foi pesado em balança de precisão; para o número de nódulos (NN) presentes nas raízes foram retirados e contados e para a massa seca de nódulos (MSN) (g) foram submetidos a secagem e pesados em balança de precisão.

3.6 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 $65 \text{ }^\circ\text{C}$ 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 $350 \text{ }^\circ\text{C}$ 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).

3.7 Análise estatística

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

4 RESULTADOS e DISCUSSÕES

Todos os tratamentos apresentaram boa germinação e ausência de pragas (Figura 4, 5) de acordo com características vegetativas.

Figura 4. Experimento montado, com 14 dias após a germinação



Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Figura 5. Evolução do experimento montado, com 23 dias após a germinação



Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

4.1 Variáveis vegetativas

Tendo como base os resultados estatísticos, foi possível avaliar as interações (GEN x RH), (GEN x TRAT), (RH x TRAT) e (GEN x RH x TRAT). Para as variáveis de crescimento vegetativo, houve diferença significativa nos genótipos BRS 421 e BRS 423, para as variáveis analisadas de massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), número de nódulos (NNOD), massa de nódulos (MNOD) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) a $p < 0,01$ (Tabela 2).

Tabela 2. Resumo da análise de variância para as variáveis de altura de planta (ALT), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), número de nódulos (NNOD), massa de nódulos (MNOD) e nitrogênio na parte aérea (NAPA), (ns) não significativo; (**) significativo a 1%, (*) 5%. Trat - Tratamento; RH - Regime hídrico, Gen - Genótipo.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio					
		ALT	MSPA	MSR	NNOD	MNOD	NAPA
Genótipo	1	399,67**	1,5300 ^{ns}	0,0083 ^{ns}	0,0076 ^{ns}	0,0023*	0,6453**
Regime Hídrico	1	1197,00**	285,5476**	0,1717**	18,9225**	0,034**	3,9603**
Tratamentos	5	12,97 ^{ns}	4,5655**	0,0095*	10,5877**	0,0036**	0,4157**
Gen X RH	1	20,00 ^{ns}	22,1278**	0,0607**	1,7632**	0,0049**	0,0108 ^{ns}
Gen X Trat	5	33,65*	9,7177**	0,0440**	0,6761**	0,0006**	0,0829**
RH X Trat	5	7,66 ^{ns}	3,3450**	0,0262**	5,8726**	0,0036**	0,1412**
Gen x RH x Trat	5	8,30 ^{ns}	4,1566**	0,0106*	3,6715**	0,0012*	0,0082**
Resíduo	96	12,55	0,8525	0,0040	0,173	0,0004	0,0082**
CV (%)		19,44	13,52	14,72	9,79	2,88	2,25

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

4.1.1 Altura, massa seca da raiz e massa seca da parte aérea

Como pode ser visto na Tabela 3, houve redução da altura em ambos os genótipos sob condição de déficit hídrico, contudo o genótipo BRS 421 apresentou melhor desempenho diante do estresse, confirmando que o genótipo tem influência direta sobre a associação formada entre a planta e o microrganismo. Observou-se que as estirpes Semia 6144 e 16295 promoveram maior crescimento vegetativo para a cultivar BRS 421, enquanto as estirpes 16295 e a testemunha nitrogenada foram mais efetivas para a cultivar BRS 423.

A MSPA também foi afetada pelo déficit hídrico, pois 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). Isto se deve ao fato de que o déficit hídrico reduz a multiplicação e divisão celular no interior do tecido vegetal, o que resulta em menor crescimento da parte aérea das plantas, que como mecanismo de defesa ao início da restrição hídrica reduzem a expansão foliar e a eficiência fotossintética (TAIZ et al., 2017). Observou-se que a MSPA foi reduzida em todos os tratamentos sob condição de déficit hídrico (Tabela 3). Apesar das variações, as estirpes ESA 123 e 16295 foram as mais eficientes para manter a MSPA nos dois genótipos investigados.

Em relação ao crescimento radicular, a estirpe na condição estressada que mais contribuiu para o crescimento da raiz, embora pouco, foi a Semia 6144, isso devido 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).

De acordo com Oliveira et al. (2005), o teor de massa seca da parte aérea pode ser considerado um indicador de produtividade, pois com o estresse hídrico, a planta fecha os estômatos para manter o potencial de água na folha, assim reduz a assimilação de CO₂ e por conseguinte os fotoassimilados, e dessa forma, os teores de massa seca da planta, bem como o crescimento e a produtividade podem ser reduzidos.

Tabela 3. Médias obtidas para as variáveis altura de planta (ALT) (cm), massa seca da parte aérea (MSPA) (g), massa seca da raiz (MSR) (g), para os genótipos BRS 421 e BRS 423, obtidos da interação tripla GEN X RH X TRAT. Significativo difere as letras: letras maiúsculas comparando as médias nas linhas entre os tratamentos individualmente controle e estresse; letras minúsculas nas colunas comparando os regimes, letras gregas entre os genótipos (Teste de Tukey, p<0,05).

Fontes de N	BRS 421						
	ALT		MSPA		MSR		
	Controle	Estresse	Controle	Estresse	Controle	Estresse	
Semia 6144	24,80 $\alpha\alpha$ A	19,20 αb A	8,69 $\alpha\alpha$ A	5,39 αb A	0,55 $\alpha\alpha$ A	0,56 $\alpha\alpha$ A	
ESA 123	21,00 $\alpha\alpha$ A	16,40 αb A	8,08 $\alpha\alpha$ AB	5,73 αb A	0,44 $\alpha\alpha$ AB	0,43 $\alpha\alpha$ AB	
16295	24,80 $\alpha\alpha$ A	19,00 αb A	6,94 $\alpha\alpha$ B	6,00 αb A	0,41 $\alpha\alpha$ B	0,38 $\alpha\alpha$ B	
16986	24,20 $\alpha\alpha$ A	16,80 αb A	8,79 $\alpha\alpha$ A	5,53 αb A	0,47 $\beta\alpha$ AB	0,32 αb B	
Nitrogênio	23,00 $\alpha\alpha$ A	19,00 αb A	7,90 $\alpha\alpha$ AB	5,92 αb A	0,42 αb B	0,51 $\alpha\alpha$ A	
Controle Absoluto	20,60 $\alpha\alpha$ A	17,20 $\alpha\alpha$ A	7,97 $\alpha\alpha$ AB	6,38 αb A	0,44 $\alpha\alpha$ AB	0,36 αb B	
Fontes de N	BRS 423						
	Semia 6144	22,30 $\alpha\alpha$ A	12,60 βb A	7,05 $\beta\alpha$ C	3,52 βb B	0,36 $\beta\alpha$ C	0,40 $\beta\alpha$ A
	ESA 123	20,60 $\alpha\alpha$ A	13,20 βb A	7,64 $\alpha\alpha$ C	6,01 αb A	0,46 $\alpha\alpha$ BC	0,40 $\alpha\alpha$ A
	16295	22,20 $\alpha\alpha$ A	14,00 βb A	10,00 $\beta\alpha$ A	6,07 αb A	0,48 $\alpha\alpha$ ABC	0,32 βb A
	16986	18,20 $\alpha\alpha$ A	11,80 βb A	9,56 $\alpha\alpha$ B	3,97 βb B	0,58 $\alpha\alpha$ A	0,35 αb A
	Nitrogênio	21,20 $\alpha\alpha$ A	16,00 βb A	8,41 $\alpha\alpha$ BC	4,73 βb AB	0,45 $\alpha\alpha$ BC	0,30 βb A
	Controle Absoluto	21,00 $\alpha\alpha$ A	14,60 βb A	7,97 $\alpha\alpha$ BC	4,15 βb B	0,56 $\alpha\alpha$ AB	0,40 αb A

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

4.1.2 Número de nódulos e massa seca de nódulos

Para o NNOD, observou-se redução nos dois genótipos inoculados sob restrição hídrica, sendo o maior decréscimo observado no genótipo BRS 421 (Tabela 4). Apesar da não inoculação nos tratamentos com e sem nitrogênio, observou-se nodulação, contudo o NNOD foi em geral menor nos dois genótipos. Isso provavelmente se deve a presença de bactérias nativas do solo, comum quando o solo não é autoclavado. Os tratamentos inoculados com as

estirpes de bactérias tiveram redução do NNOD e MNOD, provavelmente causada pelos efeitos do déficit hídrico. Porém, mesmo sob déficit hídrico, a MNOD e o NNOD podem variar em função da capacidade de adaptação das bactérias promotoras de crescimento vegetal, por serem capazes de produzir alguns compostos que lhes conferem tolerância à seca, tais como, exopolissacarídeos, biofilme e/ou sideróforos (VARDHARAJULA et al., 2011). Observou-se também, que em geral, a MNOD com bactérias nativas presentes nos tratamentos com e sem nitrogênio foi menor que a MNOD com as estirpes SEMIA 6144, ESA123, 16295, 16986, inoculadas nos dois genótipos investigados (Tabela 4).

Tabela 4. Médias obtidas para as variáveis número de nódulos (NNOD), massa de nódulos (MNOD) (g) e nitrogênio na parte aérea (NAPA), para os genótipos BRS 421 e BRS 423, obtidos da interação tripla GEN X RH X TRAT. Significativo difere as letras, letras maiúsculas comparando as médias nas linhas entre os tratamentos individualmente controle e estresse, letras minúsculas nas colunas comparando os regimes, letras gregas entre os genótipos (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

Fontes de N	BRS 421					
	NNOD		MNOD		NAPA	
	Controle	Estresse	Controle	Estresse	Controle	Estresse
Semia 6144	6,63 $\alpha\alpha A$	2,93 $\beta\beta D$	0,76 $\alpha\alpha BC$	0,73 $\alpha\beta A$	3,83 $\beta\beta B$	4,09 $\alpha\alpha BC$
ESA 123	5,06 $\alpha\alpha B$	4,38 $\alpha\beta AB$	0,75 $\alpha\alpha CD$	0,72 $\alpha\beta A$	3,61 $\beta\beta C$	4,03 $\alpha\alpha C$
16295	4,83 $\alpha\alpha BC$	3,93 $\alpha\beta AB$	0,77 $\alpha\alpha AB$	0,72 $\alpha\beta A$	3,87 $\alpha\beta B$	4,19 $\alpha\alpha BC$
16986	5,37 $\alpha\alpha B$	2,87 $\beta\beta CD$	0,80 $\alpha\alpha A$	0,74 $\alpha\beta A$	3,59 $\beta\beta C$	4,06 $\beta\alpha BC$
Nitrogênio	2,35 $\alpha\beta D$	3,63 $\beta\alpha BC$	0,70 $\alpha\alpha D$	0,70 $\alpha\alpha A$	4,15 $\alpha\beta A$	4,39 $\beta\alpha A$
Controle Absoluto	4,28 $\alpha\alpha C$	4,67 $\alpha\alpha A$	0,72 $\alpha\alpha CD$	0,71 $\alpha\alpha A$	3,62 $\beta\beta C$	4,02 $\beta\alpha B$
BRS 423						
Semia 6144	4,68 $\beta\alpha A$	4,24 $\alpha\alpha A$	0,73 $\beta\alpha C$	0,72 $\alpha\alpha A$	4,15 $\alpha\alpha A$	4,12 $\alpha\alpha BC$
ESA 123	4,64 $\alpha\alpha A$	4,09 $\alpha\beta A$	0,73 $\alpha\alpha ABC$	0,71 $\alpha\beta A$	3,91 $\alpha\beta BC$	4,09 $\alpha\alpha C$
16295	5,24 $\alpha\alpha A$	4,28 $\alpha\beta A$	0,75 $\alpha\alpha A$	0,73 $\alpha\beta A$	3,80 $\alpha\beta C$	4,10 $\alpha\alpha C$
16986	4,77 $\beta\alpha A$	3,89 $\alpha\beta A$	0,75 $\beta\alpha A$	0,72 $\alpha\beta A$	3,99 $\alpha\beta AB$	4,27 $\alpha\alpha B$
Nitrogênio	2,31 $\alpha\beta B$	2,90 $\alpha\alpha B$	0,70 $\alpha\alpha BC$	0,70 $\alpha\alpha A$	4,02 $\beta\beta AB$	4,73 $\alpha\alpha A$
Controle Absoluto	5,37 $\beta\alpha A$	4,41 $\alpha\beta A$	0,72 $\alpha\alpha AB$	0,71 $\alpha\alpha A$	3,79 $\alpha\beta C$	4,42 $\alpha\alpha B$

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

4.1.3 Nitrogênio na parte aérea

Para o nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA), observou-se maior acúmulo de nitrogênio nos tratamentos sob déficit hídrico (Tabela 4). O tratamento nitrogenado e a estirpe 16295 foram os que apresentaram maiores teor de nitrogênio na parte aérea, isso significa que a estirpe 16295 obteve melhor resposta em relação as demais, já que ela teve o resultado próximo ao tratamento nitrogenado.

Para os tratamentos sem inoculação houve interação dos genótipos de amendoim com bactérias nativas do solo, já que o amendoim é uma espécie que tem facilidade de nodular com uma ampla variedade de rizobactérias nativas. 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. A FBN tem grande importância para as leguminosas, pois, é o principal mecanismo de suplementação de N para as plantas, uma vez que as plantas precisam da FBN para obter o N, pois a deficiência deste elemento 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 (GIL-QUINTANA et al., 2013; GOPALAKRISHNAN et al., 2015).

4.2 Trocas gasosas

Para as variáveis de trocas gasosas, observou-se diferença significativa a $p < 0,01$ pelo teste de Tukey para A e gs na interação entre GEN X Trat, bem como a $p < 0,05$ para Ci, E, EIC e EUA (Tabela 5).

Tabela 5. 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 (A/Ci), eficiência do uso da água (EUA) relação entre (A/E), (ns) não significativo; (**) significativo a 1%, (*) 5%. Trat - Tratamento; RH - Regime hídrico, Gen - Genótipo.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio					
		Ci	A	E	GS	EIC	EUA
Genótipo	1	357,07 ^{ns}	0,2910 ^{ns}	0,7456**	0,000002 ^{ns}	0,000098 ^{ns}	1,0472 ^{ns}
Regime Hídrico	1	2210,20 ^{ns}	5747,6136**	75,1766**	0,410911**	0,103806**	237,0460**
Tratamentos	5	1546,90 ^{ns}	5,9698 ^{ns}	0,2755**	0,000660 ^{ns}	0,000670**	0,4535 ^{ns}
Gen X RH	1	837,40 ^{ns}	4,4892 ^{ns}	0,0116 ^{ns}	0,000077 ^{ns}	0,000485**	0,0517 ^{ns}
Gen X Trat	5	3748,85**	12,6487*	0,4414**	0,001607*	0,000483**	4,0588**
RH X Trat	5	9684,62**	19,5325**	0,0596 ^{ns}	0,000624 ^{ns}	0,001638**	7,8766**
Gen x RH x Trat	5	515,78 ^{ns}	6,7947 ^{ns}	0,7400**	0,000977 ^{ns}	0,000187**	3,6062**
Resíduo	96	1213,10	4,3358	0,0836	0,000666	0,000040	0,5767
CV (%)		14,44	19,95	14,57	3,25	14,07	15,98

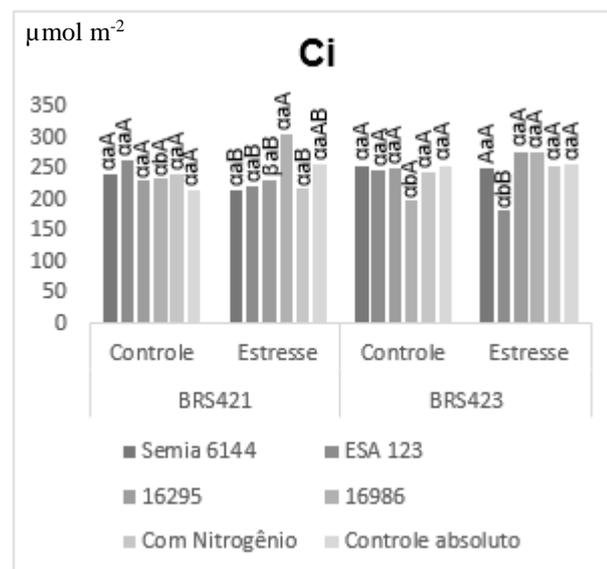
Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

4.2.1 Carbono interno

Observa-se que na maioria dos tratamentos não houve ou foi pouca redução do Ci na condição de déficit hídrico (Figura 6). O tratamento que diferiu dos demais em relação ao

carbono interno nos dois genótipos, foi com a estirpe 16986. Resultados semelhantes foram observados por Suassuna (2011), quando genótipos de citros submetidos a déficit hídrico, mantiveram o Ci com valores próximos entre às condições de irrigado ou não irrigado. Isso justifica que as plantas sob injúrias ambientais, ajustam os mecanismos morfológicos de tolerância à seca. Ferraz et al. (2012) observaram que não houve diferença significativa para a variável Ci em ecotipos de *Phaseolus vulgaris* L. cultivados no semiárido, ressaltando que nem sempre ocorre a redução de Ci 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 Ci 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 conseqüentemente afetando a fotossíntese, mesmo que este esteja em quantidades altas nos estômatos (BERTOLLI et al., 2015).

Figura 6. Medidas de trocas gasosas, concentração interna de carbono (CI). Significativo difere as letras: letras gregas entre os genótipos, letras maiúsculas comparando as médias nas linhas entre os tratamentos, letras minúsculas nas colunas comparando os regimes (Teste de Tukey, $p < 0,05$).



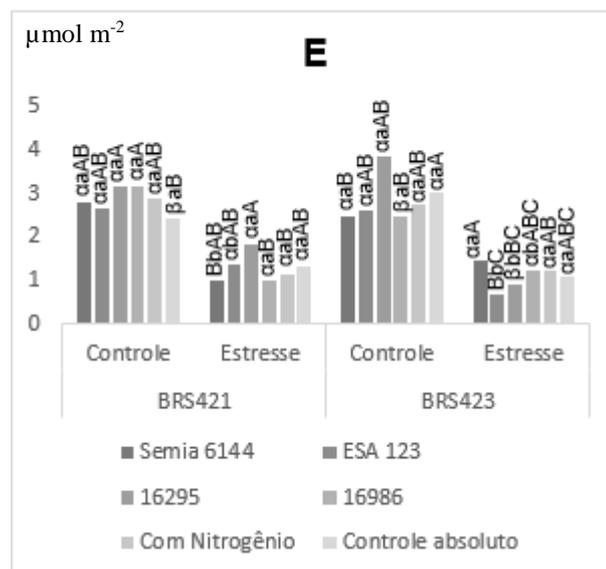
Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

4.2.2 Transpiração

Observa-se na figura 7, que quando as plantas foram submetidas ao estresse hídrico, houve redução da transpiração afim de manter o balanço hídrico na planta, 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). Essa transpiração corresponde à evaporação do tecido da planta, é um processo impulsionado pela diferença de vapor de água entre espaço intercelular e o ar circundante do ambiente, ou seja, é determinada pelo suprimento de calor que ocorre durante o dia e pela disponibilidade de água no solo, sendo reduzida com o fechamento dos estômatos.

A elevada transpiração torna-se prejudicial, pois promove a desidratação da planta, por outro lado, faz-se necessária, pois permite a captação de CO₂, para a fotossíntese.

Figura 7. Medidas de trocas gasosas, Transpiração (E). Significativo difere as letras: letras gregas entre os genótipos, letras maiúsculas comparando as médias nas linhas entre os tratamentos, letras minúsculas nas colunas comparando os regimes (Teste de Tukey, $p < 0,05$).



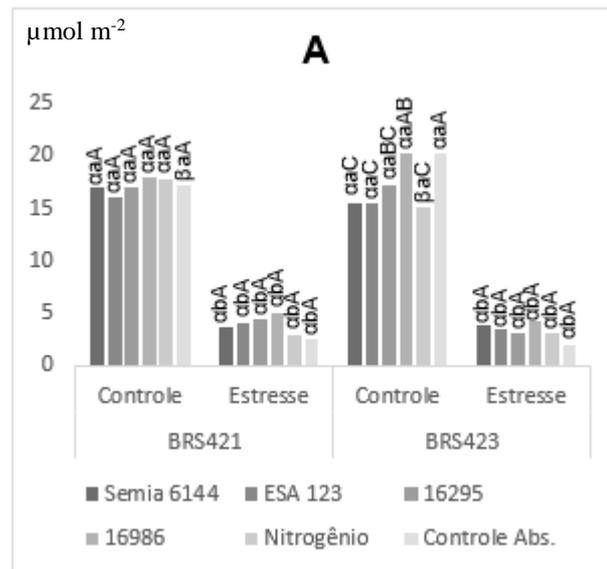
Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

4.2.3 Fotossíntese

Os genótipos BRS 421 e BRS 423 estudados sob condição de déficit hídrico sofreram redução da taxa fotossintética (Figura 8), e isso era esperado, pois sob déficit hídrico a fotossíntese foliar é afetada, e conforme o estresse avança os efeitos são mais notórios (TAIZ e ZEIGER, 2006; AZEVEDO NETO et al., 2010). A fotossíntese é um dos principais mecanismos fisiológicos relacionada ao aumento da produtividade das plantas, no entanto, pode ser afetada pelo estresse hídrico e sua eficiência tende a diminuir devido ao fechamento dos

estômatos, ocasionado pela inibição da expansão foliar, para evitar a perda de água, o que reduz a transpiração e limita a entrada de CO₂, gás altamente requerido pela atividade fotossintética.

Figura 8. Medidas de trocas gasosas, Fotossíntese (A). Significativo difere as letras, letras gregas entre os genótipos, letras maiúsculas comparando as médias nas linhas entre os tratamentos, letras minúsculas nas colunas comparando os regimes, (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

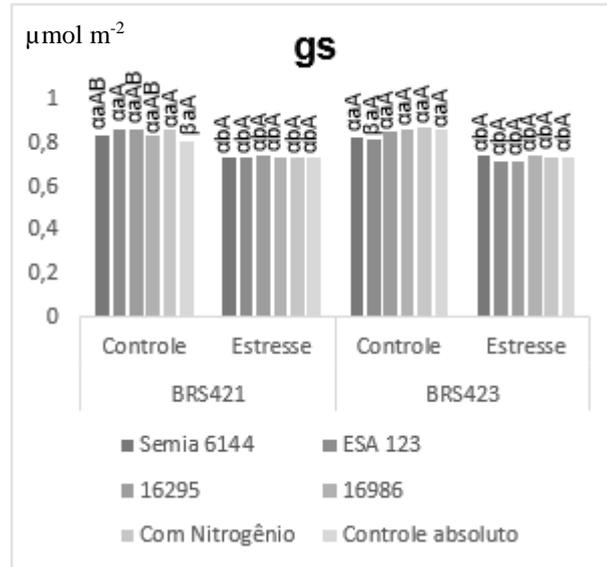


Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

4.2.4 Condutância estomática

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. A condutância estomática é um fator importante na avaliação de trocas gasosas nas plantas, pois indica o fechamento dos estômatos, estruturas responsáveis pela saída de água e entrada de CO₂ (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.

Figura 9. Medidas de de trocas gasosas, condutância estomática (*g_s*). Significativo difere as letras, letras gregas entre os genótipos, letras maiúsculas comparando as médias nas linhas entre os tratamentos, letras minúsculas nas colunas comparando os regimes, (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

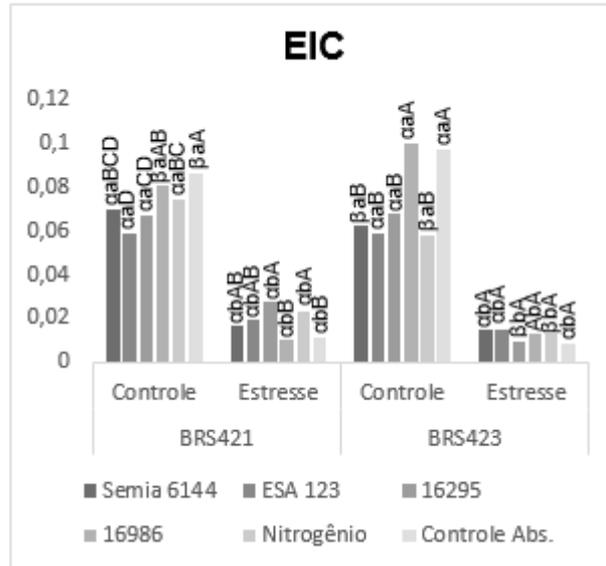


Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

4.2.5 Eficiência instantânea da carboxilação

A eficiência instantânea da carboxilação (EiC) reflete o quanto de CO₂ foi utilizado no processo de fotossíntese (KONRAD et al., 2005). Houve redução da EiC para todos os tratamentos na condição de déficit hídrico, indicando baixa eficiência da carboxilação (Figura 10). Em condições de déficit hídrico um dos fatores que causa a diminuição da EiC é a menor absorção de CO₂ (DUTRA et al., 2015). De acordo com Ferraz et al. (2012), sob déficit hídrico, a resistência da difusão gasosa limita a assimilação de CO₂, causada pelo fechamento estomático, refletindo na eficiência da carboxilação. Esse cenário, pode ser verificado na redução da fotossíntese e na condutância estomática, embora o carbono interno não tenha diminuído, sendo que este estava estocado nas câmaras subestomáticas. Assim como no presente trabalho, o déficit hídrico reduziu a EiC também em cultivares de feijão-caupi (DUTRA et al., 2015) e cultivares de laranjeiras (MAGALHÃES FILHO et al., 2008).

Figura 10. Medidas de de trocas gasosas, eficiência instantânea da carboxilação (EiC) e eficiência do uso da água (EUA). Significativo difere as letras, letras gregas entre os genótipos, letras maiúsculas comparando as médias nas linhas entre os tratamentos, letras minúsculas nas colunas comparando os regimes, (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

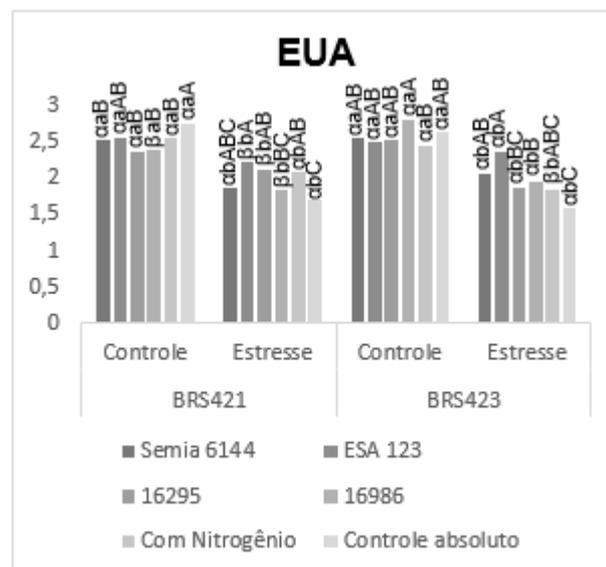


Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

4.2.6 Eficiência do uso da água

Pôde-se observar que houve redução na Eficiência do Uso da Água (EUA) para os dois genótipos BRS 421 e BRS 423 na condição não irrigada, indicando que esses genótipos foram sensíveis em relação a essa variável, o tratamento que teve menor redução na eficiência do uso da água foi com a estirpe ESA 123 (Figura 11), assim, essa estirpe foi mais tolerante ao déficit hídrico, o que pode possibilitar um melhor desenvolvimento nessa leguminosa.

Figura 11. Medidas de de trocas gasosas, eficiência do uso da água (EUA). Significativo difere as letras, letras gregas entre os genótipos, letras maiúsculas comparando as médias nas linhas entre os tratamentos, letras minúsculas nas colunas comparando os regimes, (Teste de Tukey, $p < 0,05$).



Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

5 CONCLUSÕES

Á partir das análises realizadas, aparentemente o genótipo BRS 421 obteve melhor respostas em condições de déficit hídrico, principalmente quando inoculado com Semia 6144 e 16295. Os genótipos de amendoim inoculados com *Bradyrhizobium* e cultivados em condições de déficit hídrico, em casa de vegetação, revelaram efeito significativo no crescimento vegetativo das plantas com inoculantes bacterianos. Considerando uma análise geral, observou-se que as estirpes Semia 6144 e 16295 promoveram maior crescimento para a cultivar BRS 421, enquanto as estirpes 16295 e a testemunha nitrogenada foram mais efetivas para a cultivar BRS 423. Embora alguns tratamentos inoculados com as estirpes de bactérias tenham apresentado resultados próximos a testemunha nitrogenada, esse é um dado importante a ser analisado, pois mesmo as estirpes supostamente competindo com bactérias nativas do solo, ainda assim apresentaram resultados próximo a testemunha nitrogenada, o que levaria a possível substituição de fertilizantes nitrogenados na agricultura, já que o mesmo tem um custo elevado para o meio ambiente e para o produtor.

REFERÊNCIAS

- 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 déficit 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.
- ARBONA, V.; MANZI, M.; OLLAS, C.; GOMEZ-CADENAS, A. Metabolomics as a tool to investigate abiotic stress tolerance in plants. *International Journal Molecular Science*, v. 14, n. 3, p. 4885–4911, 2013.
- AZEVEDO, N. 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.
- 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.
- 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.
- BOLONHEZI, D.; SANTOS, R. C.; GODOY, I. J. Manejo cultural do amendoim. In: SANTOS, R. C. DOS; FREIRE, R. M. M.; LIMA, L. M. DE. (Ed.). *O Agronegócio do amendoim no Brasil*. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2013. p. 185-238.
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira: Grãos. Boletim informativo. Sexto Levantamento. Safra 2019/2020. Brasília, DF, v. 7, n. 6 p. 33, 2020.
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira: grãos v.8– Safra 2020/21, Quinto levantamento, Brasília, fevereiro 2021.
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira: Safra 2021/2022, Quinto levantamento, v.9. fevereiro 2022.
- DIAZ-LÓPEZ, L. D.; GIMENO, V.; LIDÓN, V.; SIMÓN, I.; MARTÍNEZ, V.; SÁNCHEZ, F. G. The tolerance of *Jatropha curcas* seedlings to NaCl: An ecophysiological analysis. *Plant Physiology and Biochemistry*, Paris, v.54, n.2, p.34, 42,2012.
- 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.
- 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, D.F. SisVar® (Software estatístico): Sistema de análise de variância para dados balanceados, versão 5.6, Lavras: DEX/UFLA, 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.

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.

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 canadeaçúcar submetidas à deficiência hídrica. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental*, v. 14, n. 4, p. 378–386, 2010.

GOPALAKRISHNAN, S.; SATHYA, A.; VIJAVABHARATHI, R.; VARSHNEY, R.H.; GOWDA, C.L.L.; KRISHNAMURTHY, L. Plant growth promoting rhizobia: challenges and opportunities. *3 Biotech*. p. 355-377, 2015.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja; componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. *Lomdrina: embrapa soja*. V. 283, p.15, 2007.

IHUOMA SO, MADRAMOOTOO CA. Recent advances in crop water stress detection. *Computers and Electronics in Agriculture*, P. 267-275, 2017.

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.

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.

KAVAMURA, V.N.; SANTOS, S.N.; SILVA, J.L.; PARMA, M.M.; ÁVILA, 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.

- KONRAD, M. L. F.; SILVA, J. A. B.; FURLANI, P. R.; MACHADO, E. C. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em seis cultivares de cafeeiro sob estresse de alumínio. *Bragantia*, Campinas, v. 64, n. 3, p. 339-347, 2005.
- 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 70 laranja 'valência' sobre dois tipos de porta-enxerto. *Bragantia*, Campinas, v. 67, n. 1, p. 75-82, 2008.
- MARIN, F.R.; MARTHA, G. B.; CASSMAN, K. G.; GRASSINI, P. Prospect for increasing sugarcane and bioethanol production on existing crop área in Brazil. *BioScience*, V.66, n.4, p.307-316, 2016.
- MELO, E.B.S.; LIMA, L.M.; FERNANDES-JUNIOR, P.I.; AIDAR, S.T.; FREIRE, M.A.O.; FREIRE, R.M.M.; SANTOS, R.C. Nodulation, gas exchanges and production of peanut cultivated with *Bradyrhizobium* in soils with different textures. *Comunicata Scientiae*, v.7, n. 2, p. 160-166, 2016.
- 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 simbioses 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.
- MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. *Microbiologia e bioquímica do solo*. Editora UFLA. 2 ed. Lavras. P.729, 2006.
- MUTEIA, H. Os desafios que se Colocam a Agricultura Mundial. O País, Lisboa – Portugal, p. 10. Fev., 2015.
- OLIVEIRA, A. D.; FERNANDES, E. J.; RODRIGUES, T. J. D. Condutância estomática como indicador de estresse hídrico em Feijão. *Revista Engenharia Agrícola*, v.25, p.86-95, 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*, vol. 43, n. 4, p.766-773, 2012.
- RODRIGUES, G. Z.P.; DALZUCHIO, T.; GEHLEN, G. Uso do bioensaio com *Allium cepa* L. e análises físico-químicas e microbiológicas para avaliação da qualidade do rio da ilha, RS, Brasil. *Actatoxicológica Argentina*, v.24, n 2, p. 97-104, 2016.
- SANTOS, L. A.; REIS, V. M. A formação do nódulo em leguminosas. *Documentos/ Embrapa Agrobiologia*. Seropédica, n. 251, p. 14, 2008.

- 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.
- SUASSUNA, J. F. Tolerância de genótipos de citros ao estresse hídrico na fase de formação de porta-enxerto. Dissertação de mestrado. Programa de pós-graduação em engenharia agrícola, área de concentração irrigação e drenagem, Universidade Federal de Campina Grande, p. 96, 2011.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. Porto Alegre: Artmed, 2013.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. 3 a ed.: Artmed Porto Alegre, 2006. p. 719.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. *Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal*. 6 a ed.: Porto Alegre: Artmed, 2017.
- VACHERON, J.; DESBROSSES, G.; BOUFFAUD, M. L.; TOURAINÉ, B.; MOËNNELOCCOZ, Y.; MULLIR, D.; LEGENDRE, L.; WISNIEWSKI-DYÉ, F.; PRIGENTCOMBARET, 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.
- VIEIRA, R. F. *Ciclo do nitrogênio em sistemas agrícolas*. 1 edição. ISBN 978-85-7035- 780-9 Brasília, DF. Embrapa, 2017.
- YAN, W.; ZHONG, Y.; SHANGGUAN, Z. A meta-analysis of leaf gas Exchange and water status responses to drought. *Scientific reports*, v.6, 2016.