

**DESEMPENHO DE GENÓTIPOS DE AMENDOIM INOCULADOS COM
Bradyrhizobium EM CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO**

SAMARA LIMA BRITO

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPINA GRANDE – PB
MARÇO DE 2018**

**DESEMPENHO DE GENÓTIPOS DE AMENDOIM INOCULADOS COM
Bradyrhizobium EM CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO**

SAMARA LIMA BRITO

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: Profa. Dra. Liziane Maria de Lima

CAMPINA GRANDE

MARÇO DE 2018

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.

B862d Brito, Samara Lima.
Desempenho de genótipos de amendoim inoculados com *Bradyrhizobium* em condições de déficit hídrico [manuscrito] : / Samara Lima Brito. - 2018.
71 p.

Digitado.

Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Estadual da Paraíba, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, 2018.

"Orientação : Profa. Dra. Liziane Maria de Lima, Coordenação do Curso de Ciências Agrárias - CCHA."

1. Amendoim. 2. Déficit hídrico. 3. Fixação Biológica de Nitrogênio. 4. Seca.

21. ed. CDD 633.368

**DESEMPENHO DE GENÓTIPOS DE AMENDOIM INOCULADOS COM
Bradyrhizobium EM CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO**

SAMARA LIMA BRITO

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 06 de março de 2018

Banca Examinadora:



Prof. Dr^a. Valeska Silva Lucena (D. Sc., Biotecnologia)
Faculdade de Ciências Médicas
Examinador



Prof. Dr. Carlos Henrique Salvino Gadelha Meneses (D. Sc., Biotecnologia vegetal)
UEPB
Examinador



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

Ao meu Senhor, autor de todo esse sonho, e aos meus pais que tanto amo pelo que fizeram e fazem por mim.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a DEUS por toda força, equilíbrio, saúde e amor a mim proporcionado.

Aos meus pais, Maria do Socorro Lima Brito e José Marcos de Brito, por acreditar em meu potencial, por todo apoio, incentivo e educação a mim fornecidos.

Aos os familiares que tanto me apoiaram.

Aos amigos e colegas que estiveram comigo nessa jornada.

Um obrigada em especial para Aderjali Maracajá pela paciência, carinho e apoio.

A minha Orientadora Liziane Maria de Lima que está comigo desde minha graduação, meu muito obrigado pelos ensinamentos, paciência e orientação a mim fornecidos.

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

Aos professores que contribuíram como mediadores do conhecimento, meus singelos agradecimentos.

Ao professor Pedro Dantas e ao Dr. Paulo Ivan pelas imensas contribuições.

A toda equipe da Embrapa algodão, em especial ao pessoal do Laboratório de Biotecnologia que tanto ajudaram direta ou indiretamente.

Aos colegas Daniela Duarte, Allef Barbosa, Vandré Guevara e Socorro Lacerda pelo auxílio e contribuições.

A Embrapa semiárido pelo fornecimento das estirpes de *Bradyrhizobium* utilizadas no experimento.

A Dra. Tais Suassuna pelo fornecimento das sementes de amendoim usadas no experimento.

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

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

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xi
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xv
1. INTRODUÇÃO.....	19
2. OBJETIVOS.....	21
2.1 Objetivo Geral	21
2.2 Objetivos Específicos	21
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	22
3.1 O amendoim e sua importância econômica.....	22
3.2 Déficit hídrico em plantas de amendoim.....	23
3.3 Os genes e a expressão gênica.....	25
3.4 Fixação Biológica de Nitrogênio.....	27
3.5 Prolina	29
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	31
4.1 Material vegetal.....	31
4.2 Características e preparo do inoculante.....	32
4.3 Implantação, condução e coleta do experimento.....	32
4.4 Variáveis de crescimento vegetativo.....	33
4.5 Trocas gasosas.....	34
4.6 Extração de RNA e síntese de cDNA.....	34
4.6.1 PCR em Tempo Real.....	35

4.7 Teor de Prolina.....	35
4.8 Análises estatísticas.....	36
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
5.1 Variáveis de crescimento vegetativo.....	37
5.1.1 Altura de planta.....	38
5.1.2 Massa seca de parte aérea.....	39
5.1.3 Massa seca de raiz.....	39
5.1.4 Número de nódulos.....	40
5.1.5 Massa de nódulos.....	41
5.2 Trocas gasosas.....	43
5.2.1 Eficiência no uso da água.....	47
5.2.2 Eficiência instantânea da carboxilação.....	48
5.3 Teor de Prolina.....	49
5.4 Análises moleculares.....	51
6. CONCLUSÕES.....	54
REFERÊNCIAS.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Descrição dos genótipos de amendoim utilizados no experimento, Campina Grande-PB, 2017.....	31
Tabela 2. Características dos rizóbios utilizados no experimento, Campina Grande-PB, 2017.....	32
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-PB, 2017.....	33
Tabela 4. Genes e sequências nucleotídicas dos iniciadores utilizados.....	35
Tabela 5. Resumo da análise de variância para as variáveis: altura de planta (ALT), massa de parte aérea seca (MPAS) e massa seca de raiz (MSR), Campina Grande-PB, 2017.....	37
Tabela 6. Resumo da análise de variância para as variáveis: número de nódulos (NNOD) e peso dos nódulos (MNOD), Campina Grande-PB, 2017.....	38
Tabela 7. Médias obtidas para as variáveis altura da planta (ALT) (cm), massa seca da parte aérea (MSPA) (g), massa seca da raiz (MSR) (g), número de nódulos (NNOD), massa dos nódulos (MNOD) (g) para os genótipos IAC Runner 886, 2012-33 e 2012-47, Campina Grande-PB, 2017.....	42
Tabela 8. 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, 2017.....	45

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Sementes dos genótipos de amendoim IAC Runner 886 (A), 2012-33 (B) e 2012-47 (C)..... 31
- Figura 2.** Medidas de trocas gasosas g_s , E , A , C_i em genótipos de amendoim inoculados com *Bradyrhizobium*. A- IAC Runner 886, B- 2012-33, C- 2012-47. Regimes hídricos: sem estresse (controle) e com estresse (estresse) com 4 tratamentos..... 46
- Figura 3.** Eficiência do uso da água em folhas de plantas de amendoim submetidas a déficit hídrico e cultivadas na presença de rizóbios (SEMIA 6144 e ESA 123). Manejos: CN – com nitrogênio; SN – sem nitrogênio. Genótipos IAC Runner 886, 2012-33, 2012-47, respectivamente. Letra maiúscula para os regimes hídricos dentro do genótipo (regime hídrico: controle e estresse) e letra minúscula para o tratamento dentro do regime hídrico (Teste de Tukey, $p < 0,05$)..... 48
- Figura 4.** Eficiência instantânea da carboxilação em folhas de plantas de amendoim submetidas a déficit hídrico e cultivadas na presença de rizóbios (SEMIA 6144 e ESA 123). Manejos: CN – com nitrogênio; SN – sem nitrogênio. Genótipos IAC Runner 886, 2012-33, 2012-47, respectivamente. Letra maiúscula para os regimes hídricos dentro do genótipo (regime hídrico: controle e estresse) e letra minúscula para o tratamento dentro do regime hídrico (Teste de Tukey, $p < 0,05$)..... 49
- Figura 5.** Teor de prolina em genótipos de amendoim submetidos a déficit hídrico. Genótipos IAC Runner 886, 2012-33, 2012-47 respectivamente. Letra

maiúscula para os regimes hídricos dentro do genótipo (regime hídrico: controle e estresse) e letra minúscula para o tratamento dentro do regime hídrico (Teste de Tukey $p < 0,05$),.....	50
Figura 6. Extração de RNA total de genótipos de amendoim inoculados com <i>Bradyrhizobium</i> sob déficit hídrico.....	52
Figura 7. Expressão gênica dos genes <i>NCED</i> (A) e <i>ERF8</i> (B) em genótipos de amendoim inoculados com <i>Bradyrhizobium</i> em condições de déficit hídrico. Genótipos IAC Runner 886, 2012-33 e 2012-47, respectivamente.	53

LISTA DE ABREVIATURAS

A – Taxa de assimilação de CO₂ (fotossíntese líquida)

ABA – *Ácido abscísico*

ALT – Altura da planta

CEH – Com estresse hídrico

Ci – Concentração interna de carbono

CN – Com nitrogênio

CO₂ – Dióxido de carbono

DAE – Dias após a emergência

E – Transpiração

EiC – Eficiência instantânea da carboxilação

EUA – Eficiência no uso da água

ERF8 – *Elemento responsivo ao etileno*

FBN – Fixação biológica de nitrogênio

FN – Fontes de nitrogênio

GEN – Genótipo

G_s – Condutância estomática

H_2O – Água

MSPA – Massa seca da parte aérea

MSR – Massa seca da raiz

MNOD – Massa de nódulos

N – Nitrogênio

NNOD – Número de nódulos

NCED – *9-cis-Epoxicarotenóide dioxigenase*

qPCR – Reação em cadeia de polimerase quantitativa

RH – Regime hídrico

RNA – Ácido ribonucléico

SEH – Sem estresse hídrico

SN – Sem nitrogênio

RESUMO

BRITO, SAMARA LIMA M. Sc.; Universidade Estadual da Paraíba/Embrapa Algodão, Março/2018. **Desempenho de genótipos de amendoim inoculados com *Bradyrhizobium* em condições de déficit hídrico.** Liziane Maria de Lima (Orientadora).

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é conhecido por sua plasticidade em condições climáticas adversas, apesar disso sofre os efeitos da seca. O uso de microrganismos fixadores de nitrogênio para mitigar os efeitos negativos da seca sobre leguminosas tem sido investigado em algumas espécies vegetais, tais como soja e feijão. Desta forma, objetivou-se nesse trabalho, analisar o comportamento de genótipos de amendoim inoculados com *Bradyrhizobium* em condições de déficit hídrico. O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Embrapa algodão com três genótipos de amendoim (a cultivar IAC Runner 886 e as linhagens avançadas 2012-33 e 2012-47) e duas estirpes de *Bradyrhizobium* (ESA 123 e SEMIA 6144). Após 20 dias de germinação a rega foi suspensa e iniciaram-se as análises fisiológicas: fotossíntese (*A*), condutância estomática (*gs*), transpiração (*E*) e carbono interno nas plantas (*C_i*), utilizando um IRGA (Analisador de gás com Infravermelho), até o décimo dia de estresse. Folhas foram coletadas para análises de Prolina e de expressão dos genes *NCED* (*9-cis-epoxycarotenóide dioxigenase*) e *ERF8* (*Fator Responsivo ao Etileno*). Análises agronômicas de altura de planta (ALT), massa seca de parte aérea (MSPA) e de raiz (MSR), número de nódulos (NNOD) e massa de nódulos (MNOD) foram realizadas. O teor de prolina também foi analisado. Em relação aos dados fisiológicos, apesar do decaimento esperado em todas as variáveis em meio a déficit hídrico, os tratamentos inoculados com as estirpes de *Bradyrhizobium* obtiveram os melhores resultados. Os genótipos inoculados com a estirpe ESA 123 obtiveram melhores respostas a nível agrônomico (MSR, NNOD), bioquímico (prolina) e molecular. O aumento na expressão dos genes *NCED* e *ERF8* nos três genótipos inoculados com ESA 123 sugere um papel importante dessa estirpe na ativação de cascatas metabólicas de proteção nas plantas.

Palavras-chave: Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN), RT-qPCR, genes *ERF8* e *NCED*, *Arachis hypogaea* L., seca.

ABSTRACT

BRITO, SAMARA LIMA M. Sc.; Universidade Estadual da Paraíba/Embrapa Algodão, Março/2018. **Desempenho de genótipos de amendoim inoculados com *Bradyrhizobium* em condições de déficit hídrico.** Liziane Maria de Lima (Orientadora).

Peanut (*Arachis hypogaea* L.) is known for its plasticity in adverse climatic conditions, although it suffers from the effects of drought. The use of nitrogen - fixing microorganisms to mitigate the negative effects of drought on legumes has been investigated in some plant species. The objective of this work was to analyze the behavior of peanut genotypes inoculated with *Bradyrhizobium* under conditions of water deficit. The experiment was conducted in greenhouse at Embrapa cotton with three peanut genotypes (the cultivar IAC Runner 886 and the advanced strains 2012-33 and 2012-47) and two strains of *Bradyrhizobium* (ESA 123 and SEMIA 6144). After 20 days of germination the irrigation was suspended and the physiological analyzes were started: photosynthesis (A), stomatal conductance (gs), transpiration (E) and internal carbon in the plants (Ci), using an IRGA (Infrared Gas Analyzer), until the tenth day of stress. Leaves were collected for biochemical and expression analysis of the *NCED* (9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase) and *ERF8* (Ethylene Responsive Factor) genes. Plant height (ALT), aerial part dry mass (MSPA) and root mass (MSR), number of nodules (NNOD) and mass of nodules (MNOD) were performed. The proline content was also analyzed. Regarding the physiological data, despite the expected decay in the medium of the water deficit of the analyzed variables, the treatments inoculated with the *Bradyrhizobium* strains obtained the best results. The genotypes inoculated with the ESA 123 strain obtained better agronomic (MSR, NNOD), biochemical (proline) and molecular responses. The overexpression of the *NCED* and *ERF8* genes in the three genotypes inoculated with ESA 123 suggests an important role of this strain in the activation of protective metabolic cascades in plants.

Keywords: Biological Fixation of Nitrogen (FBN), RT-qPCR, *ERF8* and *NCED* genes, *Arachis hypogaea* L., dry.

1. INTRODUÇÃO

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é uma das cinco maiores oleaginosas do mundo; atualmente é cultivada em mais de 100 países (FLETCHER e SHI, 2016). No Brasil, em 2017, a maior parte da produção se concentrou na região sudeste com cerca de 431,7 mil t. No Nordeste, a produção da cultura ainda é pouca expressiva, apenas 3,6% da produção nacional, devido à má distribuição de chuvas (CONAB, 2017), maior adoção pela agricultura familiar e pouca mecanização na cultura. Contudo, vários esforços têm sido envidados pelos programas de melhoramento em todo mundo para lançar cultivares com capacidade de manter o rendimento em condições escassas de chuva (PEREIRA et al., 2015).

A seca é um dos principais fatores responsáveis por afetar negativamente o desenvolvimento e a qualidade da produção agrícola em todo mundo (HU e XIONG, 2014). A deficiência de água afeta o desenvolvimento fisiológico e nutricional das plantas levando à redução da biomassa e do crescimento. Além disso, a seca induz o fechamento estomático que limita as trocas gasosas e conseqüentemente reduz a fotossíntese (ARBONA et al., 2013; IHUOMA e MADRAMOOTOO, 2017). Seus efeitos ainda causam devastas alterações no metabolismo das plantas, como danos nas membranas celulares e na cadeia de transporte, levando ao aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (PEREIRA et al., 2016).

Para se adaptar a essas condições as plantas desencatam uma série de alterações, as quais variam de mudanças na estrutura da planta a acúmulo de solutos osmoprotetores (prolina), ácido abscísico (ABA) e enzimas antioxidantes (AMJUM et al., 2011). Muitos desses processos são governados por alterações moleculares e funcionam para aumentar a tolerância a seca (HU e XIONG, 2014; SHINOZAKI e URANO, 2017).

Vários genes e fatores de transcrição associados a essas mudanças têm sido isolados e caracterizados (CHEN et al., 2012; BRASILEIRO et al., 2015). A expressão de genes como

AtNCED em condições de seca, em *Arabidopsis thaliana*, tem sido associado ao ABA, um importante hormônio envolvido nas respostas fisiológicas como fechamento estomático e de desenvolvimento de plantas (LATA e PRASAD, 2011; UMEZAWA et al., 2011). Além disso, o ABA coordena a ativação de uma rede complexa de genes e fatores de transcrição associados ao estresse hídrico, genes ABA dependentes (LATA e PRASAD, 2011; CHI et al., 2012). Assim como o ABA, atuando em estresse, temos os fatores de transcrição e, apesar da sua estrutura simples de dois carbonos, o hormônio vegetal etileno serve como um mediador chave de fatores de estresse bióticos e abióticos. Estudos revelaram que os ERFs (Fatores Responsivo ao Etileno) são reguladores fundamentais na tolerância ao estresse abiótico, como seca e salinidade, em várias espécies via ABA independente (MULLE e MUNNÉ-BOSCH, 2015).

O uso de bactérias dos gêneros *Bradyrhizobium* e *Rhizobium*, com capacidade para infectar raízes de plantas leguminosas e induzir a formação de nódulos com posterior fixação de nitrogênio (LOBATO et al., 2013), tem sido uma alternativa para otimizar os custos de produção com menores requerimentos de fertilizantes nitrogenados (GOPALAKRISHNAN et al., 2015). Além de melhorar a eficiência fotossintética, as trocas gasosas e influenciar nas repostas da planta contra os efeitos da seca (KAVAMURA et al., 2013; GOPALAKRISHNAN et al., 2015; MELO et al., 2016).

Neste contexto, o amplo potencial de adaptação aos climas semiáridos, aliado a capacidade de interagir positivamente a inoculação com vários isolados de rizóbios (PEREIRA et al., 2015; DARYANTO et al., 2015), torna o amendoim uma cultura promissora para investigar os benefícios da associação com isolados do gênero *Bradyrhizobium*, principalmente em condição de seca. Portanto, este trabalho objetiva investigar os possíveis benefícios da interação planta x rizobium a partir de análises agronômicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares, em condições de seca.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a interação de isolados de *Bradyrhizobium* sp. com genótipos de amendoim sob condições de déficit hídrico, por meio de análises fisiológicas, moleculares e de crescimento e teor de prolina, a fim de selecionar o genótipo e o isolado melhor aclimatado ao estresse.

2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Avaliar alterações fisiológicas provocadas pelo déficit hídrico nos genótipos de amendoim inoculados com *Bradyrhizobium* sp.;
- ✓ Analisar o teor de prolina nos genótipos de amendoim submetidos a déficit hídrico;
- ✓ Estimar os componentes de crescimento vegetativo a fim de identificar o genótipo mais responsivo em condições de déficit hídrico;
- ✓ Analisar a expressão dos genes *NCED* e *ERF8* nos genótipos de amendoim e a possível relação com a tolerância dos genótipos à deficiência hídrica;
- ✓ Identificar dentre os inoculantes, qual melhor contribuiu para a tolerância dos genótipos de amendoim ao déficit hídrico.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 O amendoim e sua importância econômica

O amendoim, originário da América do Sul (DILLEHAY et al., 2007), é considerado uma das principais oleaginosas cultivadas no Brasil e no mundo. Atualmente ocupa o quarto lugar entre as oleaginosas mais cultivadas, com aproximadamente 45 milhões de toneladas e 24 milhões de hectares, onde a maior produção mundial concentra-se na China, Índia, Estados Unidos e Nigéria (FAOSTAT, 2017; USDA, 2018).

No Brasil seu cultivo é bastante difundido nas regiões Sul e Sudeste, sendo o estado de São Paulo o maior produtor, com cerca de 422,3mil toneladas na safra 2016/17. Da produção paulista, grande parte (80%) é destinada aos mercados Europeus, sendo o restante consumido internamente pelas fábricas de doces (CONAB, 2017). Nas regiões semiáridas do nordeste, pode ser apontada como alternativa de rentabilidade para produtores da região (FREITAS, 2011).

Quanto as características do amendoim, trata-se de uma dicotiledônea pertencente à família Fabaceae, subfamília Faboideae, gênero *Arachis*, possui folhas compostas e pinadas, com folíolos inseridos no pecíolo variando de 4 a 9 cm. Os folíolos possuem forma elíptica ou lanceolada, variando com a cultivar de estudo. Os estômatos, estruturas captadoras de CO₂ na planta, estão presentes nas duas superfícies foliares, ou seja, adaxial e abaxial (NOGUEIRA et al., 2013). As raízes por sua vez são pivotantes e laterais, com taxa de crescimento elevada durante os primeiros estádios de desenvolvimento da planta, sendo reduzido na fase de desenvolvimento dos grãos (GREGORY e REDDY, 1982).

Suas flores são completas, perfeitas e hermafroditas. O ovário é pequeno, cilíndrico, súpero, unicarpelar, com dois a seis óvulos. Seu estigma está situado entre as anteras e a flor do amendoim possui alta taxa de autogamia (autofecundação) (SILVA, 2015). A época de florescimento é ampla, variando entre as espécies, havendo aparecimento de maior número de

flores, e o processo de frutificação acontece por meio de geocarpia, onde a flor após ser fecundada, produz o fruto de forma subterrânea por meio do ginóforo. E são os frutos gerados que possuem maior interesse econômico, devido ao poder nutritivo e de óleo presente nas sementes (NOGUEIRA e TÁVORA, 2005).

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

É uma planta classificada como mesófila, com metabolismo de planta C3, porém, apresenta características de tolerância a seca mostrando-se adaptada a restrição hídrica. A transpiração da planta depende das condições ambientais tais 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).

O teor de óleo nas sementes de amendoim é cerca de 40% a 50% e proteínas de 22% a 33%, também contém carboidratos, sais minerais e vitaminas E e do complexo B, constituindo-se assim em um alimento altamente energético (585 calorias/100 g) (SILVEIRA et al., 2011). É uma leguminosa utilizada na alimentação humana, *in natura* ou processada, ou ainda na produção de óleo. O estudo com amendoim também vindo sendo conduzido como matéria prima promissora na produção de biodiesel, devido ao alto teor de óleo em suas sementes (GONÇALVES et al., 2004; NAKAGAWA e ROSOLÉM, 2011).

Devido a sua adaptabilidade em diferentes condições abióticas, o cultivo é realizado em diversas regiões isoladamente ou em consórcio de rotação com outras culturas, podendo ainda ser utilizado como cobertura de solo e como planta forrageira (ARAÚJO et al., 2008).

A cultura se destaca como uma das mais importantes leguminosas cultivadas no mundo (ISLEIB et al., 2004; CHEN et al., 2010). Possui benefícios econômicos consideráveis e aumento gradual em área plantada nos últimos anos (CONAB, 2017). Porém, a produção e qualidade do amendoim são negativamente afetados por estresses ambientais, como climas extremos, salinidade, seca e estresse oxidativo (RAO e WRIGHT, 1994; LAURIANO et al., 2000). A temperatura afeta o crescimento e desenvolvimento do amendoim nas fases de florescimento, crescimento e maturação dos frutos. O déficit hídrico em especial afeta a produção e enchimento das vagens, variando entre cada genótipo (SHINDE et al., 2010; NAUTIYAL et al., 2012). Essas situações causam alterações fisiológicas que culminam em

modificações metabólicas afetando no crescimento e perdas na produtividade (KALARIYA et al., 2013).

3.2 Déficit hídrico em plantas de amendoim

A água é um componente chave na manutenção da vida, atua como um solvente universal e como um 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 e ZEIGER, 2017).

Dentre os estresses abióticos, o déficit hídrico é um dos principais que restringe as culturas em todo o mundo, reduzindo a produtividade (SINGH et al., 2014), retardando o crescimento, induzindo o fechamento estomático e conseqüentemente reduzindo a fotossíntese (NÉMETH et al., 2002). O déficit hídrico também gera alterações nas membranas celulares, aumento da respiração, inibição da fotossíntese, menor produção de matéria seca, senescência prematura e redução na produção (UPADHYAY et al., 2011; PEREIRA et al., 2012; DUARTE et al., 2013). Bartels e Sunkar (2005) ressaltam que o estresse hídrico gera diminuição do crescimento, devido ao fechamento dos estômatos, menor assimilação de CO₂, síntese de assimilados, diminuição da área foliar, além de uma menor eficiência do aparato fotossintético.

Um dos primeiros sintomas do estresse hídrico é a diminuição no teor relativo de água nas folhas, gerando variações no potencial hídrico, de turgor e ajustamento osmótico nos tecidos vegetais (HAMLYN, 2007). O acúmulo de osmólitos compatíveis gera uma estratégia de defesa para evitar a perda de água na planta. Esses osmólitos podem ser açúcares, aminoácidos, ácidos orgânicos, proteínas e íons com função de regular a turgescência celular, de tal forma que o potencial hídrico dentro da célula seja mais negativo em relação ao solo e ao ar, a fim de evitar que a planta desidrate por completo (PADMAVATHI e RAO, 2013). Segundo Verbruggen e Hermans (2008), quando as plantas são submetidas ao estresse hídrico, o conteúdo de prolina pode aumentar em até 100 vezes, em comparação as plantas controle, sendo assim um importante parâmetro para a seleção de plantas mais resistentes.

O estresse hídrico também ocasiona alterações em componentes celulares e bioquímicos nas plantas, onde cascatas de sinalização são iniciadas, gerando ativação ou supressão de certos genes (YAMAGUCHI-SHINOZAKI e SHINOZAKI 2006; KATAM et al., 2013). Afeta também o transporte de elétrons nos tilacóides (sistemas de membranas internas, onde ocorre as reações de luz da fotossíntese), a fosforilação, a carboxilação e a fotossíntese nas plantas (KAMBIRANDA et al., 2011). A raiz é a primeira parte da planta que percebe a falta de

água, elas desempenham um papel fundamental em condições de seca, pela sua capacidade de absorver água em condições de estresse (THANGTHONG et al., 2016).

No semiárido brasileiro, o amendoim é frequentemente submetido a diferentes durações e intensidades de deficiência hídrica no solo, devido à escassez ou a falta de chuvas nessas regiões (AZEVEDO NETO et al., 2010). Dentre os estresses abióticos que o amendoim está sujeito, o déficit hídrico provocado pela ausência ou baixa precipitação exigida pela cultura é o que mais afeta as lavouras (ARRUDA et al., 2015). O suprimento de água e nutrientes são fatores que influenciam no desenvolvimento e produtividade das culturas agrícolas (CATTIVELLI et al., 2008; ANJUM et al., 2011). Os danos gerados pela deficiência hídrica dependem da intensidade, duração do estresse e estágio fenológico que a cultura se encontra (CHAVES e OLIVEIRA, 2004).

Estudos fisiológicos sugerem que a cultura do amendoim possui certa tolerância à seca e possui mecanismos melhorados de eficiência do uso da água (NAUTIYAL et al., 2012). A cultura do amendoim demonstra-se adaptada a condições de seca, com genótipos aclimatados à condições de déficit hídrico ou salino, devido suas características morfológicas, tais como posição dos estômatos e aumento de raiz e fisiológicas de redução da condutância estomática e conseqüentemente da transpiração foliar (GRACIANO et al., 2011; SOUSA et al., 2012).

3.3 Genes responsivos a estresse hídrico

O estresse hídrico é um dos maiores desafios para pesquisadores em um cenário atual de mudanças climáticas rápidas. Cientistas estão envidando esforços a fim de tentar elucidar vários processos metabólicos a níveis celulares (CHAVES et al., 2003). Os estresses ambientais, como calor, frio, seca e salinidade, influenciam no crescimento e na produtividade das plantas. As mesmas respondem e se adaptam a esses estresses a níveis fisiológicos e bioquímicos, porém, o estresse abiótico mostrou induzir a expressão de genes com várias funções em uma variedade de plantas (YAMAGUCHI-SHINOZAKI e SHINOZAKI, 2006).

Em condições de seca, as plantas emitem sinalizações após perceberem mudanças nas relações hídricas (UMEZAWA et al., 2010). A rápida sinalização é iniciada através do reconhecimento de osmosensores presentes na membrana celular que posteriormente induzem outras proteínas e fatores de transcrição relacionados à resposta ao estresse (MAATHUIS, 2014). Dentre respostas moleculares que as plantas apresentam ao estresse hídrico, têm-se a alteração na expressão gênica, o que reflete em diferentes caminhos de percepção do estresse, na

transdução de sinais, regulação e síntese de vários compostos (RAMANJULU e BARTELS 2002; SREENIVASULU et al., 2007).

Dentre os genes atuantes em condições de déficit hídrico estão o *NCED* e o *ERF8*. A síntese de ABA, além de controlar processos fundamentais do desenvolvimento das plantas, também está relacionada a estresses abióticos, como baixas temperaturas, condições de seca e alta salinidade, sendo monitorado no citosol primeiro na parte aérea depois na raiz (WAN e LI, 2006; CLEMENT et al., 2008). Tanto no amendoim, quanto em outras plantas, o teor de ABA é aumentado em condições de estresse hídrico, com aumento considerável nos níveis de NCED. Esta proteína foi identificada como enzima chave na biossíntese do ABA em amendoim sob déficit hídrico (HU et al., 2013). Uma maior biossíntese de ABA está correlacionada com a alta expressão de membros da família *NCED* em tecidos foliares e radiculares (ZHANG et al., 2008). Silva et al. (2012) observaram em genótipos de feijão-caupi, a indução de genes pertencentes à biossíntese do ABA, sinalização celular, transportadores de prolina e biossíntese de lipídeos de membranas. A expressão desses genes indica sua participação em processos relacionados à proteção da planta contra estresse abiótico.

Existem duas rotas de sinalização do estresse, uma rota dependente do ABA e outra independente. Apesar da cascata ABA-dependente ser crucial para a resposta da planta ao estresse hídrico, alguns genes que se expressaram em mutantes, mostraram que a sinalização do ABA foi comprometida, sugerindo a existência de uma rota ABA-independente em condições de estresse (AGGARWAL et al., 2010). Kuromori et al. (2014) mostraram que além das sinalizações e respostas mediadas por ABA, análises moleculares revelaram rotas ABA-independentes, mediadas por vários fatores de transcrição, atuando na regulação da expressão de genes importantes para diversos processos fisiológicos estresse-responsivos nas plantas.

Dentre alguns fatores que atuam na via independente do ABA, tem o ERF (Elemento Responsivo ao Etileno) pertencente a uma família de fatores de transcrição, conhecidos pela ativação da expressão de genes a partir de sua ligação à sequências específicas do elemento DRE (Elemento Responsivo a Desidratação) no promotor de genes envolvidos com respostas a vários tipos de estresse abiótico, tais como déficit hídrico (MIZOI, 2012). O etileno é um hormônio importante em vários processos fisiológicos das plantas, sendo indutor de respostas relacionadas aos diferentes estresses. Como a taxa de transcrição de um gene é determinante para sua expressão, os mecanismos moleculares pelos quais a transcrição gênica é regulada têm sido de interesse crescente e se tornado um dos tópicos de estudos em genética molecular envolvendo o etileno (ITO et al., 2012). A regulação gênica em nível transcricional é um dos principais pontos

de controle dos processos biológicos, onde os fatores de transcrição desempenham papel fundamental nesse processo (JOFUKU et al., 1994; SHARMA et al., 2010).

O ERF está envolvido em muitos processos de sinalização e respostas ao estresse (DIETZ et al., 2010). O ERF desempenha papel positivo na tolerância ao sal, à seca e ao calor, por regulação de genes específicos do estresse que integram os sinais do etileno (CHENG et al., 2013). Este influencia uma série de processos importantes para a adaptação a estresses bióticos ou abióticos, como ataque de patógenos, radiação UV, temperatura extrema e seca (ECKER, 1995; O'DONNELL et al., 1996; PENNINGCKX et al., 1996).

Cheng et al. (2013) analisaram a expressão do gene *ERF1* em *Arabidopsis* e confirmaram que muitos genes induzíveis pelo estresse estão potencialmente a jusante de *ERF1*, incluindo *RD29B*, *COR47e* *LEA4-5*, dentre outros. Entre os 1.156 genes regulados por *ERF1*, 46 e 61 deste, apresentaram expressão sob seca e salinidade, respectivamente. O *ERF* apresentou super expressão durante o déficit hídrico em cultivares de *A. hypogaea*, sugerindo sua importância na interação com os elementos DRE e nos processos de tolerância e aclimação da planta (DANG et al., 2012). Em outras espécies, os *ERF* também estiveram relacionados com diversos estresses abióticos, como no trigo (*Triticum aestivum*), onde a transcrição do gene *TaERF1* foi induzida por seca, salinidade, baixa temperatura e pela infecção por *Blumeria graminis* f. sp. tritici (XU et al., 2007). As respostas das plantas e a adaptação aos estresses abióticos são controladas por cascatas de transdução de sinal via molecular, nas quais os hormônios das plantas, como parte da rede de sinais, funcionam como integradores centrais que ligam e reprogramam as complexas cascatas de sinalização adaptativas do estresse (MA et al., 2006; GOLLDACK et al., 2014). Isto remete a importância nos estudos a nível molecular na compreensão de respostas das plantas principalmente em condições de déficit hídrico.

3.4 Fixação biológica de nitrogênio

Devido ao crescimento da população mundial, que deve atingir em média oito bilhões de pessoas até 2030, se requer maior demanda de alimentos, que vem sendo atendida tanto pelo cultivo em áreas novas, muitas vezes impróprias para a agricultura, como pelo aprimoramento da agricultura, incluindo o maior uso de insumos, a exploração de recursos genéticos e o desenvolvimento de novas tecnologias. A necessidade de desenvolvimento de tecnologias que garantam a segurança alimentar, mas que também preservem o meio ambiente, é evidenciada pela urgência em manter os recursos naturais, estima-se que cerca de 23% dos 8,7 bilhões de

hectares de terras agricultáveis, pastagens permanentes e florestas do mundo já tenham sido degradadas (HUNGRIA et al., 2007).

Muito se tem estudado sobre o processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN) e a interação planta x bactéria, tais como Melo et al. (2016), Sizenando et al. (2016) e Furlan et al. (2017), que avaliaram a contribuição da FBN e a produção de amendoim inoculados com *Bradyrhizobium*. Em milho, a FBN pode contribuir em aumento de 20 a 30% na assimilação de nitrogênio utilizado pela cultura (MOREIRA et al., 2010). A FBN consiste na redução do N para formação de amônia. Vale ressaltar que o nitrogênio molecular, abundante na atmosfera, não pode ser absorvido pelas plantas, exceto por microrganismos fixadores tais como as bactérias nitrificadoras que transformam o nitrogênio molecular em compostos utilizáveis pelas plantas (KERBAUY, 2008).

Na agricultura moderna, o uso de fertilizantes nitrogenados representam a 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 N₂ em amônia (NH₃), composto utilizado pelas plantas, requer hidrogênio (derivado de gás de petróleo), catalisador contendo ferro, altas temperaturas (300° a 600°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). A FBN tem sido uma alternativa viável na substituição de adubos nitrogenados, pois além de ser mais ecológica, todo o N fixado é aproveitado pelas plantas, quando em associação (FRANCO; DOBEREINER, 1994).

As bactérias infectam a planta formando, naturalmente, nódulos em suas raízes e possuem a capacidade de quebrar a tripla ligação do nitrogênio atmosférico (N₂), transformando-o em forma disponível para as plantas (TAIZ e ZEIGER, 2017; MALAVOLTA e MORAES, 2006). O nódulo é tido como um órgão da planta, formado a partir da simbiose entre a planta e o rizóbio, porém, a efetividade das bactérias só é possível existir em baixo nível de oxigênio, uma vez que a enzima nitrogenase, responsável pela FBN é sensível ao O₂ (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). No caso do amendoim, a infecção dos rizóbios ocorre a partir da penetração da bactéria na raiz por fissuras na epiderme, não havendo, portanto, a formação do cordão de infecção, característico da nodulação de bactérias em outras 28 espécies de leguminosas (CHANDLER, 1978).

A FBN é um processo realizado por microrganismos vivos, e sua maior ou menor eficiência varia em função de características edáficas, da espécie de bactéria e principalmente da especificidade planta-simbionte (FERREIRA et al., 2016; ULZEN et al., 2016). Mutch e Young (2004) também corroboram ao falar que a formação dos nódulos radiculares e a fixação de níveis elevados de N dependem de fatores ambientais, mas principalmente da afinidade genética entre o hospedeiro e o simbionte. Sobre o processo de nodulação, os sinais moleculares excretados pelas raízes da planta hospedeira ativam a expressão dos genes de nodulação pelo rizóbio, o que resulta na produção de fatores Nod, essenciais para o processo de infecção (SUGAWARA et al., 2006).

O amendoim (*A. hypogaea* L.) é uma leguminosa que apresenta características de associação com bactérias fixadoras de N, como *Bradyrhizobium* sp., permitindo eficiência no processo de absorção desse nutriente (SANTOS et al., 2017; SILVA et al., 2017). O uso de inoculantes na cultura do amendoim tem mostrado resultados positivos sobre a produção de biomassa e produtividade de grãos (SANTOS et al., 2005; MARCONDES et al., 2010; SIZENANDO et al., 2016). Atualmente existem no mercado dois inoculantes de *Bradyrhizobium* sp. indicados pelo MAPA para o gênero *Arachis*, sendo um para *A. hypogaea*, o amendoim cultivado, o inoculante SEMIA 6144, e um outro para *A. pintoi* o amendoim forrageiro, o SEMIA 6439. Já para a soja (*Glycine max*) existem quatro inoculantes registrados, sendo dois da espécie *B. japonicum* e dois da espécie *B. elkanii* (MAPA, 2011).

3.5 Prolina

Na ausência de água, as plantas tendem a desencadear vários eventos a nível fisiológico, tais como o ajustamento osmótico para manter o potencial hídrico e a turgescência das células. Tais processos são favorecidos pelo acúmulo de solutos orgânicos de baixo peso molecular no citosol, como açúcares solúveis, prolina e aminoácido livres (NEPOMUCENO et al., 2001).

O acúmulo de solutos orgânicos atua no ajustamento osmótico, que se desenvolve em resposta a desidratação dos tecidos (AZEVEDO NETO, 2005). Estes solutos são moléculas ou íons atóxicos que não interferem no metabolismo do vegetal, e acumulam-se no citoplasma, mantendo a turgescência celular e estabilizando proteínas e estruturas celulares em condições ambientais adversas (BRAY et al., 2001; BARTELS e SUNKAR, 2005)

Dentre os solutos orgânicos que atuam no ajustamento osmótico existe a prolina, um aminoácido que se acumula em plantas superiores em situações de estresse hídrico e/ou salino. Seu acúmulo nestas condições pode ser consequência tanto do aumento na sua síntese, como do

decréscimo na sua degradação (FERREIRA et al., 2002). O aumento dos teores de prolina pode ativar várias funções celulares além do ajustamento osmótico, como reserva de carbono e nitrogênio utilizado no crescimento e restabelecimento após o estresse, estabilizador de proteínas e membranas, e eliminadores de radicais livres. A prolina está presente em pequenas quantidades nas plantas, aproximadamente entre 1 a 5 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de massa seca, e devido sua importância no ajustamento osmótico é bastante estudado em plantas sob estresses abióticos (KAVI KISHOR et al., 2005), sendo utilizado inclusive como critério na classificação de genótipos com menor ou maior resistência (NOGUEIRA et al., 1998; PEREIRA et al., 2010; ALVES et al., 2016).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material vegetal

Foram utilizados três genótipos de amendoim de porte rasteiro, advindos do Banco de Germoplasma da Embrapa (Tabela 1; Figura 1).

Tabela 1. Descrição dos genótipos de amendoim utilizados no experimento, Campina Grande-PB, 2017.

Genótipos	Variedade	Ciclo	Espécie
IAC Runner 886	Cultivar	125-130 dias	<i>A. hypogaea</i>
2012-33	Linhagem avançada	130 dias	<i>A. hypogaea</i>
2012-47	Linhagem avançada	145 dias	<i>A. hypogaea</i>

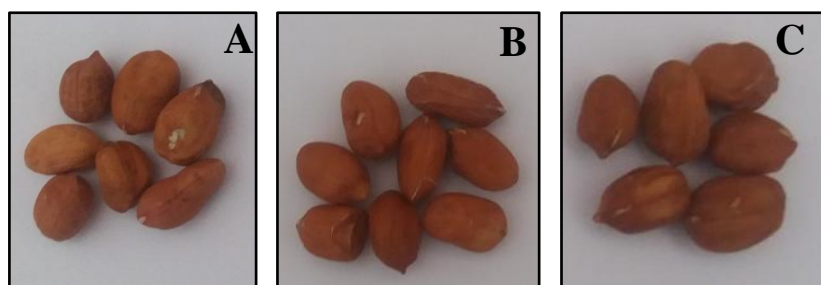


Figura 1. Sementes dos genótipos de amendoim IAC Runner 886 (A), 2012-33 (B) e 2012-47 (C). **Foto:** Samara Lima.

4.2 Inoculantes de *Bradyrhizobium*

Utilizou-se dois isolados de *Bradyrhizobium sp.*, sendo um isolado pela equipe coordenada pelo dr. Paulo Ivan da Embrapa semiárido (ESA 123) e um recomendado pelo MAPA (SEMIA 6144) (Tabela 2).

As bactérias foram inicialmente incubadas em placa de petri contendo meio YM ágar (glicose 1%, ágar 2%, peptona 0,5%, malte 0,3%, extrato de levedura 0,3%), por cinco dias a 28°C em BOD. Em seguida, foram inoculadas em meio líquido “*Yeast Extract Malt*”, YEM (glicose 1%, peptona 0,5%, malte 0,3% e extrato de levedura 0,3%) à 28°C, sob agitação (150 rpm), por 7 dias, quando ocorreu o final da fase exponencial de crescimento das bactérias ($1,0 \times 10^9$ UFC/mL), observado pela mudança de coloração do meio, ocasionado pelas bactérias.

Tabela 2. Características dos rizóbios utilizados no experimento, Campina Grande-PB, 2017.

Isolado	Gênero	Instituição	Crescimento	Referência
SEMIA 6144	<i>Bradyrhizobium</i>	IAC	Lento	MAPA (2011)
ESA 123	<i>Bradyrhizobium</i>	Embrapa Semiárido	Lento	Cunha et al. (2013)

4.3 Implantação, condução e coleta 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 de 59 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. O solo foi previamente analisado no Laboratório de Solos e Nutrição de Plantas da Embrapa Algodão, pelo método descrito por Silva (2009) (Tabela 3), e corrigido de acordo com a análise de solo, para tal aplicou-se 4 g de superfosfato simples e 1,5 g de cloreto de potássio/vaso, antes da semeadura. Para o tratamento com nitrogênio foi adicionado ao solo 1 g de sulfato de amônio para cada vaso. Os tratamentos foram caracterizados em: (i) manejo sem nitrogênio (controle absoluto); (ii) manejo com nitrogênio químico (sulfato de amônio) e (iii) manejo com inoculantes a base de rizóbios.

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-PB, 2017.

Descrição	pH (H ₂ O)	Complexo Sortivo (mmolc/dm ³)					%	mmolc/dm ³	mg/dm ³	g/Kg		
	1:2,5	Ca ⁺²	Mg ⁺²	Na ⁺	K ⁺	S	H+Al	T	V	Al ⁺³	P	M.O
Amostra	6,0	2,6	1,2	NA	NA	NA	14,9	NA	NA	1,0	1,8	1,5

As sementes de amendoim foram desinfestadas com etanol puro por 30 segundos, hipoclorito de sódio 1% por 3 minutos e por fim lavadas 10 vezes com água destilada estéril para retirada de qualquer tipo de resíduo (VINCENT, 1970).

Foram colocadas quatro sementes de cada genótipo por vaso, após 10 dias da germinação foi realizado o desbaste, deixando-se apenas duas plantas por vaso. Houve 3 inoculações de rizóbios (1 mL do inoculante/ planta), utilizando pipeta automática: a primeira no momento da semeadura, a segunda após 15 dias de semeadura e por fim aos 30 dias. Vinte dias após a germinação, as plantas foram submetidas a restrição hídrica por 10 dias, quando as mesmas atingiram 50% de fechamento estomático, para avaliar os efeitos do déficit hídrico. Nesse período foram irrigadas apenas as plantas controle mantendo-se a umidade próxima a capacidade de campo.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC) com um arranjo fatorial de 3 x 4 x 2, com seis repetições, sendo distribuídos da seguinte forma; três genótipos de amendoim (IAC Runner 886, 2012-33 e 2012-47), quatro formas de disponibilização de N, sendo duas estirpes a base de *Bradyrhizobium* (SEMIA 6144 e ESA 123), um manejo com nitrogênio químico (sulfato de amônia) e outro sem nitrogênio (testemunha absoluta), e dois regimes hídricos (com estresse e sem estresse).

4.4 Variáveis de crescimento vegetativo

Foram avaliadas as seguintes variáveis de crescimento: altura de planta (ALT) (cm), mediu-se desde a base até o ápice da haste principal da planta; massa seca da parte aérea (MSPA) (g) e de raízes (MSR) (g), o material foi seco em estufa com circulação de ar forçada a temperatura de 65°C, durante aproximadamente 72 horas até atingir massa constante, após a secagem o material foi pesado em balança de precisão; número de nódulos (NNOD), os mesmos

foram retirados e contados; massa de nódulos (MNOD) (g), após secagem foram pesados em balança de precisão.

4.5 Trocas Gasosas

As plantas de amendoim submetidas a déficit hídrico foram avaliadas no período da manhã entre 9:00 e 11:00 horas, aos 10 dias de déficit hídrico (30 dias após emergência), utilizando um analisador portátil de fotossíntese (IRGA - Infra Red Gas Analyzer, modelo LCpro-SD), sem fonte artificial de carbono e com fonte luminosa artificial de $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{m}^{-1}$. Os parâmetros avaliados foram: condutância estomática (g_s) ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); fotossíntese (A) ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); transpiração (E) ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e concentração interna de CO_2 (C_i) ($\mu\text{mol mol}^{-1}$). A partir dos dados obtidos calculou-se a eficiência instantânea da carboxilação (EiC) entre A e C_i (A/C_i) e a eficiência do uso da água (EUA) entre A e E (A/E) (MAGALHÃES FILHO et al., 2008).

4.6 Extração de RNA total e síntese de cDNA

Para as análises de expressão gênica, no décimo dia de estresse, folhas foram coletadas em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer (-80°C). Para a extração do RNA total, 0,1 g de folhas foram maceradas em N_2 líquido com o auxílio de almofariz e pistilo, até a obtenção de um pó fino, utilizando o Invisorb Kit (Invitek), seguindo as recomendações do fabricante. Uma alíquota de RNA total (1 μg) de cada amostra foi tratado com 1 U/ μL de DNase I (BioLab), seguindo as recomendações do fabricante. A pureza e concentração foram estimadas em gel de agarose (0,8%) e por espectrofotometria.

A síntese do cDNA foi feita utilizando o kit *ImProm-IITM Reverse Transcription System* (Promega) a partir de 1 μg de RNA total. Primeiramente, adicionou-se 10 μL de RNA total (1 μg) e 1 μL de Oligo dT₁₅ (0,5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) em um microtubo de 1,5 mL, e incubado à 70°C por 5 minutos. Em seguida foi realizada a reação de transcrição reversa nas seguintes condições: 5 μL da reação (RNA total + Oligo dT₁₅); 4 μL de 5X Reaction Buffer; 2,4 μL de MgCl_2 (25 mMol); 1 μL de dNTP (10 mMol); 2 μL de Recombinant RNasin® Ribonuclease Inhibitor (40 U/ μL) e ImProm-II™ RT (25 U/ μL) em um volume final de 20 μL . Finalmente, as amostras foram incubadas em termociclador: 25°C por 5 minutos, 42°C por 1 hora e depois a 70°C por 15 minutos.

4.6.1 PCR em tempo real

Para cada reação de RT-qPCR foram utilizados 6 μ L do qPCR-SYBR-green mix/Rox (Ludwig), 0,36 μ L de cada oligo (10 μ M) (Tabela 4), 3,5 μ L de cDNA (diluído 1:3) e água para um volume final de 12 μ L. As condições de amplificação foram: 95°C por 10 minutos e 40 ciclos de 95 °C por 15 segundos, 60 °C por 1 minuto e por fim 72°C por 15 segundos. Os gráficos, curva de Melt e Cqs foram gerados automaticamente pelo termociclador Eco™ Real-Time PCR System (Illumina) baseando-se no método de normalização com genes de referência, $\Delta\Delta Cq$ (LIVAK et al., 2001) e para análise do padrão gerado foi utilizado a quantificação relativa. Reações com os genes constitutivos PP2A e Ubiquitina foram realizadas como controle endógeno (ÁRTICO et al., 2014). Visando determinar as variações na expressão gênica foi utilizado como controle da reação um pool dos tratamentos não estressados (plantas inoculadas com SEMIA 6144 e ESA 123).

Tabela 4. Genes e sequências nucleotídicas dos oligos utilizados.

Gene	Sequência 5'→3'
<i>NCED</i>	F- ATGATCCACGATTTTCGCCAT
	R- TCCCAAGCATTCCAAAGATG
<i>ERF8</i>	F- GTTTCGGCGGCGGAGCTTCA
	R- TGC GTTGGCCGAAGGTGTCC
<i>UBIQUITINA</i>	F- CAACGCTCCATCTTGTCTT
	R- TGATCGTCTTTCCCGTAAGC
<i>PP2A</i>	F- GATCCTTGTGGAGGAGTGGA
	R- GCGAAACAGTTCGACGAGAT

4.7 Teor de Prolina

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

macerada e 3 mL de ácido sulfossalicílico a 3% foram adicionados, em seguida a mistura foi centrifugada a 2000 x g em temperatura ambiente. Uma alíquota de 500 µL do sobrenadante foi misturado a 500 µL de ninhidrina ácida e 500 µL de ácido acético glacial em um tubo de ensaio hermeticamente fechado. O tubo foi aquecido durante 1 hora a 100 °C e em seguida resfriado em gelo. A leitura procedeu-se adicionando 1 mL de tolueno para suspender o material orgânico o qual foi avaliado em espectrofotômetro a 520 nm.

4.8 Análises estatísticas

Os dados coletados foram analisados usando o programa estatístico SISVAR versão 5.6 (FERREIRA, 2010), os quais foram submetidos à análise de variância pelo teste F e a comparação de médias pelo de Teste de Tukey com 5% de significância.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Variáveis de crescimento vegetativo

Os genótipos de amendoim inoculados com *Bradyrhizobium* e cultivados em condições de déficit hídrico apresentaram significância a $p \leq 0,01$ para todas as fontes de variação analisadas em relação a MSR e algumas para ALT e MSPA (Tabela 5). Também houve significância a $p \leq 0,05$ na interação GEN x FN para variável de MSPA, como também na interação GEN x RH x FN para altura de planta.

Tabela 5. Resumo da análise de variância para as variáveis: altura de planta (ALT), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR), Campina Grande-PB, 2017.

Fontes de variação	GL	Quadrado médio		
		ALT	MSPA	MSR
Genótipos	2	10,3172*	0,0316 ^{ns}	0,0257**
Regime hídrico	1	168,9734**	0,0458 ^{ns}	0,0260**
Fontes de nitrogênio	3	14,5631**	0,0909**	0,0148**
GEN X RH	2	4,1155 ^{ns}	0,0077 ^{ns}	0,0284**
GEN X FN	6	7,8262 ^{ns}	0,0440*	0,0162**
GEN X RH X FN	6	8,7542*	0,0251 ^{ns}	0,0268**
Resíduo	51	2,7569	0,0194	0,0026
CV (%)		14,61	12,69	13,03

ns – não significativo; ** significativo a 1%; * significativo a 5% de probabilidade de erro pelo Teste F.

Em relação ao número de nódulos (NNOD) e massa de nódulos (MNOD) (Tabela 6), houve significância a $p \leq 0,01$ para a maioria das fontes de variação analisadas, enfatizando a interação tripla GEN X RG X FN, objetivo deste trabalho.

Tabela 6. Resumo da análise de variância para as variáveis: número de nódulos (NNOD) e massa de nódulos (MNOD), Campina Grande-PB, 2017.

Fontes de variação	GL	Quadrado médio	
		NNOD	MNOD
Genótipos	2	236,361**	0,0002**
Regime hídrico	1	30,250 ^{ns}	0,0001**
Fonte de nitrogênio	1	191,361**	0,000067**
GEN x RH	2	77,583**	0,000029 ^{ns}
GEN x FN	2	28,361*	0,000036**
GEN x RH X FN	2	448,583**	0,000071**
Resíduo	25	8,276	0,000002
CV (%)		17,58	10,67

ns – não significativo; ** significativo a 1%; * significativo a 5% de probabilidade de erro pelo Teste F.

5.1.1 Altura da planta

Observou-se redução de ALT em todas as plantas submetidas a condições de déficit hídrico (Tabela 7), entretanto houve uma redução mínima significativa das plantas quando inoculados com as estirpes investigadas, principalmente com ESA 123. No genótipo 2012-33 por exemplo, não houve diferença estatística em condições de déficit hídrico entre as plantas inoculadas com rizóbios e o tratamento com nitrogênio químico, indicando possíveis benefícios da interação planta/rizóbio na obtenção do nitrogênio importante dentre outras funções no crescimento em altura das plantas. Correia e Nogueira (2004) e Duarte et al. (2013) observaram uma redução significativa na altura das plantas de genótipos de amendoim sob déficit hídrico, porém, sem inoculação de bactérias.

Em experimentos com amendoim, Arruda et al. (2015) observaram que a diminuição da umidade durante o período de estresse hídrico, levou a uma menor produção de fotoassimilados e queda na massa seca das plantas. A intensidade dessa redução das plantas sob déficit hídrico variou em função dos genótipos estudados.

González (2015) relatou que o estresse hídrico interfere no crescimento das plantas, bem como no processo de fixação do nitrogênio em algumas leguminosas noduladas. Contudo, vários mecanismos foram descritos para explicar esta redução, tais como a limitação de oxigênio e a falta de carbono, dependendo da leguminosa estudada, o que corrobora com o presente estudo, onde se observou diminuição da condutância estomática relacionado ao fechamento estomático e conseqüentemente diminuição da concentração interna de carbono, fatores estes importantes na fotossíntese, conseqüentemente para o desenvolvimento da planta.

5.1.2 Massa seca da parte aérea

No presente estudo houve redução na MSPA para a maioria dos tratamentos analisados (Tabela 7), entretanto, observa-se mínima redução de MSPA em condições de déficit hídrico quando inoculados com as estirpes, principalmente com a estirpe ESA 123, com redução de 4, 0,8 e 10% para os genótipos IAC Runner 886, 2012-33 e 2012-47, respectivamente. Observa-se também que não há diferença estatística dos genótipos em relação a condição hídrica e aos tratamentos, o déficit hídrico inibiu minimamente o desenvolvimento das plantas, isto deve-se possivelmente a eficiência da rubisco e do ciclo de Calvin na geração de assimilados, possibilitando seu desenvolvimento mesmo em meio ao déficit hídrico (TAIZ e ZEIGER, 2017).

Uma das alternativas realizadas pelas plantas é a redução da parte aérea e a expansão da raiz, para poder economizar água e aumentar a área radicular (SANTOS et al., 2015). Araújo e Ferreira (1997) investigaram genótipos de amendoim submetidos a déficit hídrico em diferentes estádios de desenvolvimento e observaram uma expressiva redução na matéria seca da parte aérea em todos os tratamentos.

5.1.3 Massa seca da raiz

Em relação a MSR em condições de estresse, houve incremento em todos os genótipos quando inoculados com a estirpe ESA 123 (Tabela 7), bem como no genótipo 2012-47 com SEMIA 6144, indicando possíveis benefícios desses isolados para plantas, uma vez que o aumento das raízes proporciona uma maior área de absorção de água em maiores profundidades. Houve também aumento de raiz nos tratamentos com N, demonstrando à similaridade das respostas dos isolados com o tratamento com fonte química de N em resposta ao crescimento radicular. Correia e Nogueira (2004), e m estudos com amendoim, verificaram que a ausência de água reduziu os parâmetros de crescimento vegetativo, porém, não paralisou.

Em condições de déficit hídrico, parte dos assimilados produzidos pela fotossíntese ou da degradação do amido são utilizados para estimular o crescimento do sistema radicular, resultando em uma maior área radicular (ALBUQUERQUE et al., 2013). Rizobactérias promotoras de crescimento podem estimular o crescimento radicular, como os rizóbios, que além da FBN, podem induzir a produção do hormônio citocinina nas raízes, aumentando a proliferação dos pêlos absorventes (VACHERON et al., 2013). Furlan (2017), em experimentos com amendoim inoculados com *Bradyrhizobium* sp., observou aumento no peso seco de raízes submetidas a estresse. Estes dados corroboram com os resultados aqui reportados e confirmam o benefício que a interação dos rizóbios com as plantas promove.

5.1.4 Número de nódulos

Em relação ao número de nódulos, observou-se aumento no número de nódulos nos genótipos IAC Runner 886 e 2012-33 inoculados com ESA 123, bem como no genótipo 2012-47 com a estirpe SEMIA 6144 em condições de déficit hídrico, mostrando que o fator estresse não foi limitante na interação genótipo x rizóbio, para os respectivos tratamentos acima informados. Isso mostra a possível eficiência na inoculação, bem como a capacidade das plantas mesmo em condições de déficit hídrico, formarem assimilados suficientes para si e para os rizóbios em interação, o que contribuiu para minimizar os efeitos deletérios de ALT, MSPA e MSR nestas condições (Tabela 7). Melo et al. (2016), em estudos com amendoim inoculado com *Bradyrhizobium* sp., observou incremento de 28% no número de nódulos em relação ao controle (sem fertilizante nitrogenado), para o genótipo BRS Havana.

Peixoto et al. (2010) relataram que o número e massa seca de nódulos, como parâmetros indiretos, podem evidenciar a eficiência da inoculação. Estas variáveis podem auxiliar tanto no aumento do peso seco das raízes quanto da parte aérea e até incrementar na produção (SANTOS et al., 2007). Apesar de não ter aumentado ALT e MSPA nos genótipos inoculados, não houve diferença significativa entre controle e estresse, nem reduções severas na condição estressada. E apesar de alguns tratamentos não terem promovido o aumento do número de nódulos na condição de déficit hídrico, nos genótipos investigados, observou-se nódulos avermelhados, sendo este um parâmetro da plena atividade dos rizóbios nas raízes (HUNGRIA, 2001).

Santos et al. (2005) avaliaram diferentes isolados de rizóbios nativos da região nordeste do Brasil e verificaram que a quantidade e o tamanho dos nódulos por planta são muito dependentes da cultivar e do isolado utilizado. A cultura do amendoim pode estabelecer simbiose com diversas estirpes do gênero *Rhizobium* sp. e *Bradyrhizobium* sp., porém, para aumentar a

eficiência da inoculação é importante que as estirpes tenham elevada capacidade de competir com as estirpes nativas do solo (SANTOS et al., 2017).

5.1.5 Massa dos nódulos

Em relação a massa dos nódulos (Tabela 7), observou-se aumento em IAC Runner 886 inoculado com ESA 123 corroborando com o aumento em NNOD para o mesmo genótipo, bem como em 2012-47 também inoculado com ESA 123 que apesar de não ter observado aumento de NNOD, observou-se nódulos avermelhados sendo indicativo de atividade dos rizóbios (HUNGRIA, 2001). Santos et al. (2017), em estudos de amendoim inoculados com *B. japonicum* e *Azospirillum brasilens*, reportaram que a inoculação combinada destas duas bactérias, resultou no aumento no número e matéria seca dos nódulos nas plantas, em comparação ao tratamento controle (sem inoculação). Santos et al. (2014) avaliando o efeito da inoculação de diferentes estirpes de rizóbio no crescimento inicial do amendoim cv. IAC Tatu ST, verificaram que a inoculação nas sementes proporcionou aumento no número e matéria seca dos nódulos por planta. Apesar de não ter havido aumento no NNOD, houve aumento da massa, confirmando nódulos maiores e mais eficientes da estirpe ESA 123.

Não houve aumento em MNOD nos genótipos inoculados com SEMIA 6144. Resultados semelhantes foram observados por Melo (2014), em cultivares de *Phaseolus vulgaris* L., inoculadas com a estirpe SEMIA 4077, que teve redução do peso e número de nódulos, gerados pelos efeitos do déficit hídrico. Porém, mesmo sob déficit hídrico, a MNOD e o NNOD podem variar em função da capacidade de adaptação de bactérias promotoras de crescimento, 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). Esses compostos têm a propriedade de proteger contra o dessecamento ocasionado por estresses ambientais como o déficit hídrico, captar ferro, co-fator da nitrogenase e auxiliar na FBN, e proteger contra agressões como falta de nutrientes. Em *Brayhizobium sp.*, os exopolissacarídios são macromoléculas que contém açúcares e fazem parte das estruturas e componentes da superfície celular das bactérias (OTOBONI, 2007; TRENTIN et al., 2013).

Tabela 7. Médias obtidas para as variáveis altura de planta (ALT) (cm), massa seca da parte aérea (MSPA) (g), massa seca da raiz (MSR) (g), número de nódulos (NNOD), massa dos nódulos (MNOD) (g) para os genótipos IAC Runner 886, 2012-33 e 2012-47, Campina Grande-PB, 2017.

IAC Runner 886										
Fontes de N	ALT		MSPA		MSR		NNOD		MNOD	
	SEH	CEH	SEH	CEH	SEH	CEH	SEH	CEH	SEH	CEH
SEMIA 6144	14,90Aa	6,83Bb	1,21Aa	1,02Aa	0,36Ab	0,35Bb	22,00Aa	4,66Bb	0,014Aa	0,004Bb
ESA 123	12,33Aa	12,16Ba	1,28Aa	1,23Aa	0,34Ab	0,45Ba	4,66Ab	14,33Ba	0,004Bb	0,010Ba
CN	13,46Aa	11,20Ba	1,25Aa	1,23Aa	0,26Ab	0,35Bb	-	-	-	-
SN	13,46Aa	9,93Bab	0,82Ab	1,04Aa	0,65Aa	0,32Bc	-	-	-	-
2012-33										
SEMIA 6144	12,23Aab	10,23Bab	1,24Aa	0,95Aa	0,31Aa	0,31Bc	19,33Aa	18,00Aa	0,016Aa	0,012Ba
ESA 123	15,23Aa	12,76Ba	1,17Aa	1,16Aa	0,36Aa	0,47Ba	12,66Ab	20,66Aa	0,170Aa	0,14Ba
CN	12,66Aab	11,63Ba	1,02Aa	1,13Aa	0,36Aa	0,33Bc	-	-	-	-
SN	10,90Ab	7,96Bb	1,04Aa	0,91Aa	0,30Aa	0,41Bb	-	-	-	-
2012-47										
SEMIA 6144	11,63Ab	6,83Bb	1,14Aa	1,07Aa	0,34Aa	0,50Ba	15,66Aa	32,33Ba	0,018Aa	0,009Bb
ESA 123	12,10Aab	10,20Bab	1,09Aa	0,99Aa	0,40Aa	0,49Ba	18,33Aa	13,66Bb	0,016Ab	0,018Ba
CN	10,40Ab	10,33Ba	1,12Aa	1,01Aa	0,38Aa	0,49Ba	-	-	-	-
SN	15,46Aa	7,43Bab	1,06Aa	1,08Aa	0,36Aa	0,40Ba	-	-	-	-

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, $p < 0,05$). SEH- sem estresse hídrico; CEH- com estresse hídrico.

5.2 Trocas gasosas

Para as variáveis de trocas gasosas, observou-se diferença significativa a $p < 0,01$ pelo teste de Tukey para C_i , E e g_s na interação entre GEN X RH X FN bem como a $p < 0,05$ para EUA (Tabela 8).

Observou-se diminuição nas variáveis fisiológicas em todos os genótipos investigados em condições de déficit hídrico, com exceção do IAC Runner 886 no tratamento com fonte química de nitrogênio (Figura 2). Tais resultados devem-se ao fato que em déficit hídrico ocorre redução na taxa fotossintética das plantas, causando fechamento dos estômatos para reduzir a perda de água por transpiração, redução na absorção de CO_2 , diminuição da área foliar, além de antecipar a senescência das folhas (LARCHER, 2006; TAIZ e ZEIGER, 2017). Todas essas alterações fazem parte da defesa natural das plantas contra o estresse hídrico.

Souza et al. (2001), em trabalhos com mudas de videira, observaram redução das trocas gasosas após 7 dias de estresse. Gonçalves et al. (2010) também observaram redução nas trocas gasosas em variedades da cana-de-açúcar submetidas à déficit hídrico.

A atividade estomática é fundamental nos processos fisiológicos, sendo o principal meio de trocas gasosas entre a atmosfera e o interior da maquinaria fotossintética (SINGH e REDDY, 2011). A redução na condutância estomática induz a menor transpiração e conseqüentemente menor perda de água por evapotranspiração, resultando assim em maior tolerância das plantas a estresses abióticos (DUTRA, 2015). Resultados similares ao presente trabalho foram obtidos por Jadoski et al. (2005) em estudos com pimentões, onde o carbono interno no mesófilo foliar foi reduzido pelo fechamento estomático, promovendo diminuição na taxa de assimilação de CO_2 . Graciano et al. (2016) em estudos com genótipos de amendoim, também observaram redução nas trocas gasosas, quando submetidos a restrição hídrica.

Observou-se também uma alta similaridade nos dados de C_i , A e E (Figura 2), fato esse esperado, pois à medida que é reduzida a disponibilidade hídrica no solo, o fechamento estomático é induzido, conseqüentemente ocorre redução na fotossíntese, limitando a entrada de CO_2 , bem como redução na transpiração, pois o principal meio de perda de água é pelos estômatos (LARCHER, 2006). Furlan et al. (2017) relataram que uma diminuição na fotossíntese pode restringir o suprimento de carbono para os nódulos nas raízes, o que pode explicar a diminuição no peso de nódulos em alguns

genótipos.

Tabela 8. 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, 2017.

Fonte de variação	Quadrado médio						
	GL	A	Ci	E	gs	EiC	EUA
Genótipo	2	0.074 ^{ns}	335.37 ^{ns}	0.200 ^{ns}	0.002 ^{ns}	0.0001 ^{ns}	0.184 ^{**}
Regime hídrico	1	4.959 ^{**}	36360.05 ^{**}	1.986 ^{**}	0.228 ^{**}	0.0025 [*]	1.990 ^{**}
Fontes de N	3	0.043 ^{ns}	3377.81 ^{ns}	0.045 ^{ns}	0.004 ^{ns}	0.0000 ^{ns}	0.216 ^{ns}
GEN X RH	2	0.686 ^{**}	1265.01 [*]	0.157 ^{**}	0.009 [*]	0.0009 ^{ns}	0.530 [*]
GEN X FN	6	0.213 ^{ns}	2414.52 [*]	0.0860 ^{**}	0.008 ^{**}	0.0001 ^{ns}	0.248 [*]
GEN X RH X FN	6	0.173 ^{ns}	3516.97 ^{**}	0.0999 ^{**}	0.010 ^{**}	0.0001 ^{ns}	0.298 [*]
Resíduo	51	0.145	1286.21	0.028505	0.002	0.0002	0.031
CV (%)		20,30	14,95	17,35	23,52	12,21	4,59

ns- não significativo; **, * significativo a 1% e 5% de probabilidade pelo teste F. GEN- Genótipo; FN-Fontes de nitrogênio, RH – Regime hídrico.

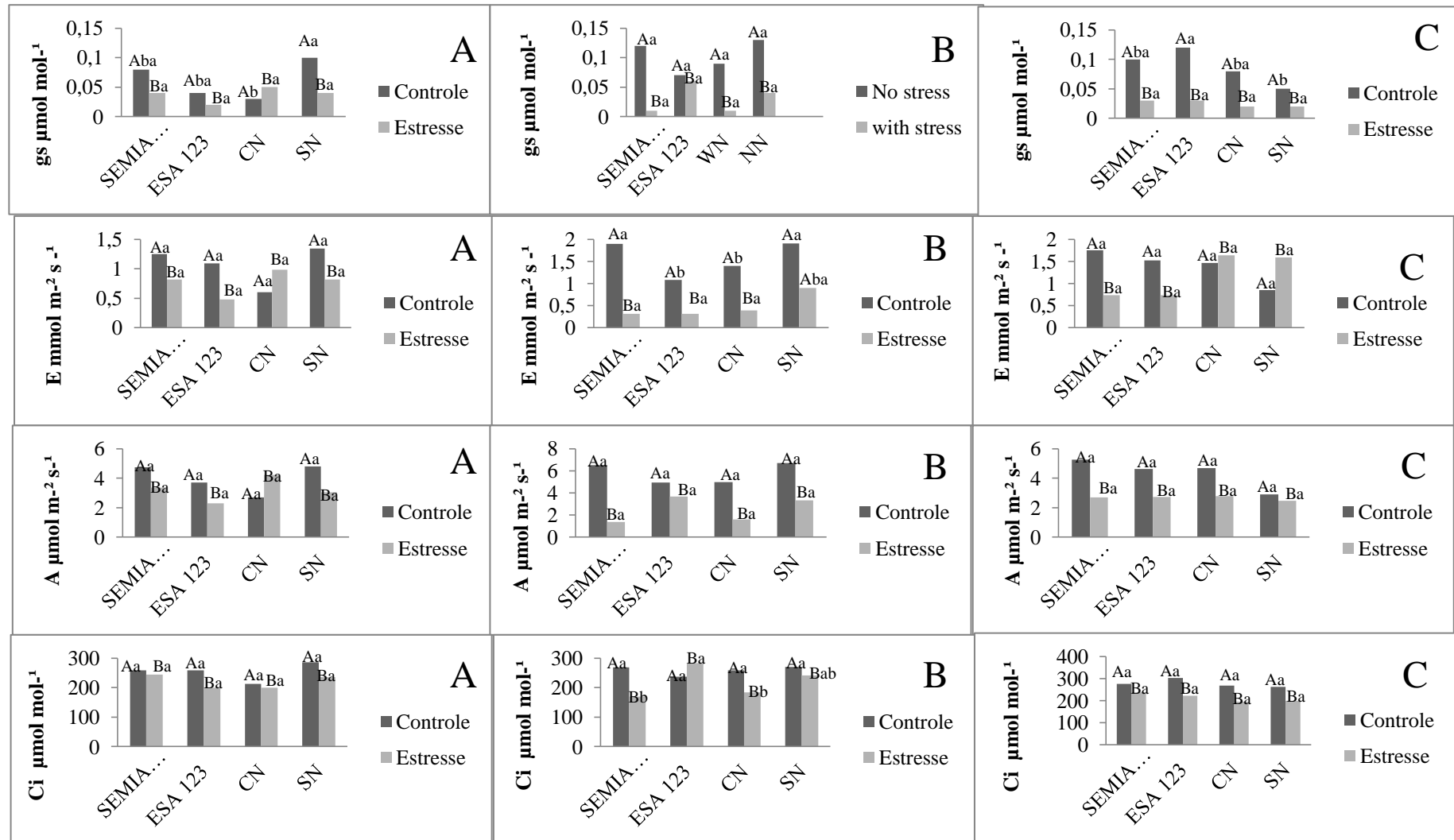


Figura 2. Medidas de trocas gasosas g_s , E , A , C_i em genótipos de amendoim inoculados com *Bradyrhizobium*, sendo A, B e C, IAC Runner 886, 2012-33, 2012-47, respectivamente. Regimes hídricos: sem estresse (controle) e com estresse (estresse) com 4 tratamentos. Letras maiúsculas comparando as médias entre os regimes hídricos e minúsculas comparando tratamentos do mesmo regime hídrico. (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

5.2.1 Eficiência no uso da água (EUA)

No presente trabalho observou-se aumento da EUA em grande parte dos tratamentos (Figura 3), o que significa o aproveitamento da água para as atividades metabólicas e diminuição da perda de água por transpiração, evitando assim a desidratação celular. Larcher (2006) diz que a melhor relação entre absorção de CO₂ e consumo de H₂O ocorre quando os estômatos estão parcialmente fechados, podendo ser observada no início do estresse hídrico quando os dois processos de difusão são reduzidos, fazendo com que a EUA alcance valores mais altos. Isso foi observado nos genótipos aqui investigados, onde mesmo com estômatos parcialmente fechados, a maioria das plantas conseguiram manter a EUA alta. Entretanto, alguns tratamentos obtiveram EUA menor em relação ao controle (Figura 3). Taiz et al. (2017) relataram que estresse hídrico severo e a desidratação das células do mesófilo inibem fortemente o seu metabolismo e a fotossíntese, reduzindo a EUA.

A relação entre a fotossíntese e a transpiração indica a eficiência no uso da água (EUA), e os valores relacionam a quantidade de carbono que a planta fixa, por cada unidade de água que perde. O uso eficiente da água está atrelado ao tempo de abertura estomática, pois, enquanto a planta absorve CO₂, necessário para a fotossíntese, a água é perdida para o ambiente por evapotranspiração (PEREIRA-NETTO et al., 2002).

O fechamento estomático é importante porque evita a perda excessiva de água por transpiração, permitindo assim a utilização do CO₂ acumulado nas câmaras subestomáticas e reduzindo a perda de água em condições de déficit hídrico (BERTOLLI et al., 2015; YAN et al., 2016).

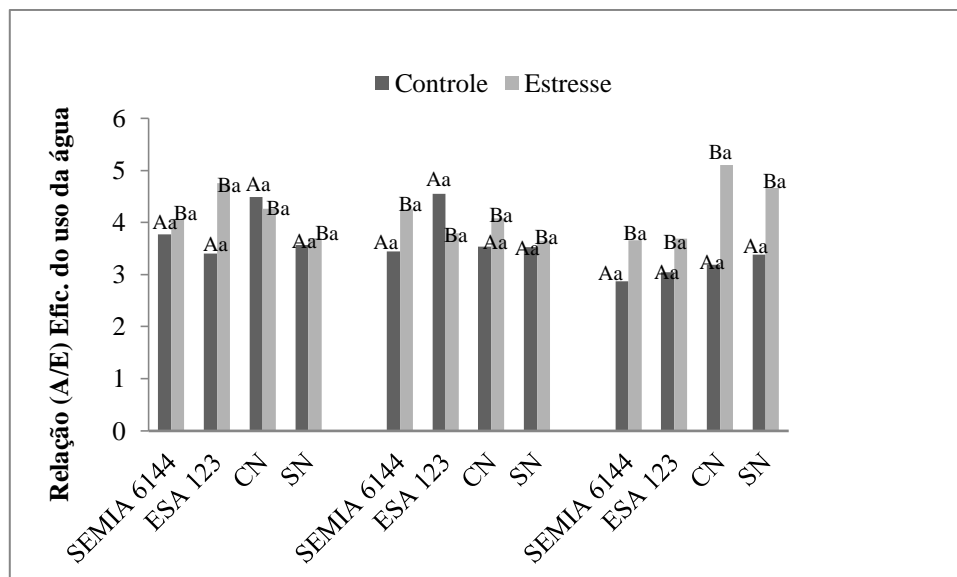


Figura 3. Eficiência do uso da água em folhas de plantas de amendoim submetidas a déficit hídrico e cultivadas na presença de rizóbios (SEMIA 6144 e ESA 123). Manejos: CN – com nitrogênio; SN – sem nitrogênio. Genótipos IAC Runner 886, 2012-33, 2012-47, respectivamente. Letras maiúsculas para os regimes hídricos dentro do genótipo (regime hídrico: controle e estresse) e letras minúsculas para o tratamento dentro do regime hídrico (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

5.2.2 Eficiência instantânea da carboxilação (EiC)

A relação entre a taxa de assimilação de CO_2 e a concentração de CO_2 intracelular (A/C_i) é o cálculo utilizado na eficiência instantânea da carboxilação (EiC), ou seja, o quanto de CO_2 foi utilizado no processo de fotossíntese (KONRAD et al., 2005; MACHADO et al., 2005). Em relação a EiC, observou-se diminuição na maioria dos tratamentos investigados (Figura 4), com exceção de IAC Runner 886 no tratamento CN e 2012-47 no tratamento SN, indicando o aproveitamento do carbono assimilado pelos estômatos para os processos fotossintéticos.

Sob déficit hídrico, um dos fatores que diminuem a EiC é a menor absorção de CO_2 realizada pelas plantas (DUTRA et al., 2015). Nestas condições, a resistência da difusão gasosa limita a assimilação de CO_2 , proporcionada pelo fechamento estomático (FERRAZ et al., 2012). Este cenário pode ser observado no presente trabalho, onde se observou uma diminuição na g_s , C_i (Figura 2) e taxa de assimilação de CO_2 nas plantas, acarretando assim, numa diminuição na EiC (Figura 4).

Em condições de estresse hídrico, Magalhães Filho et al. (2008) observaram

redução da EiC em cultivares de laranjeiras, bem como Dutra et al. (2015) obtiveram resultados similares em cultivares de feijão-caupi. Já Ferraz et al. (2012) observaram aumento da EiC devido ao incremento na concentração interna de dióxido de carbono e aos ganhos na taxa de assimilação de CO₂. No presente trabalho, observa-se diminuição de *C_i* e *A* (Figura 2), o que gerou consequentemente diminuição da eficiência da carboxilação na maioria dos tratamentos em condições de estresse (Figura 4).

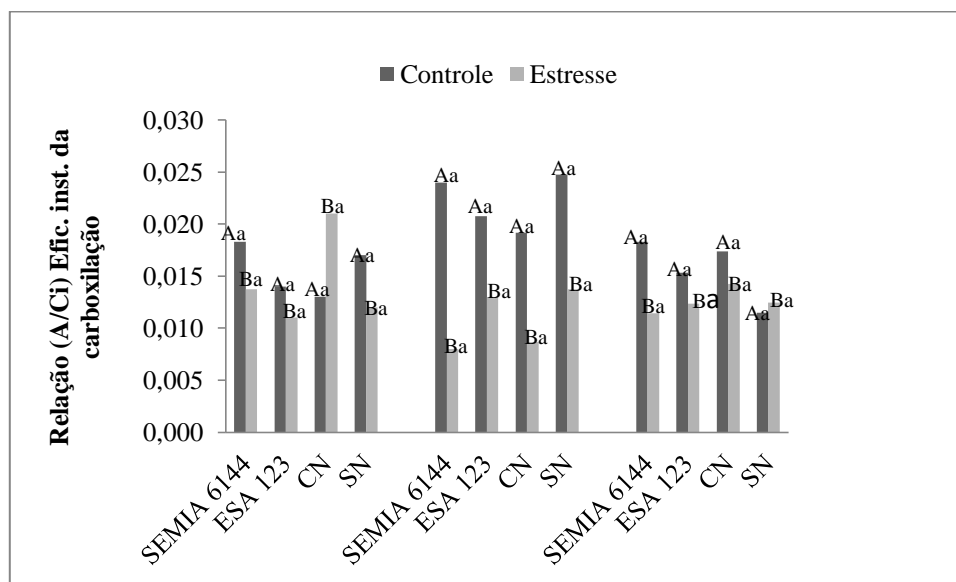


Figura 4. Eficiência instantânea da carboxilação em folhas de plantas de amendoim submetidas a déficit hídrico e cultivadas na presença de rizóbios (SEMIA 6144 e ESA 123). Manejos: CN – com nitrogênio; SN – sem nitrogênio. Genótipos IAC Runner 886, 2012-33, 2012-47, respectivamente. Letras maiúsculas para os regimes hídricos dentro do genótipo (regime hídrico: controle e estresse) e letras minúsculas para o tratamento dentro do regime hídrico (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

5.3 Teor de prolina

Observou-se aumento no teor de prolina nas folhas, em condições de déficit hídrico, nos três genótipos avaliados (Figura 5). A prolina é uns dos compostos osmorreguladores mais estudados em condições de baixo suprimento hídrico, sendo utilizado inclusive como critério na classificação de variedades com menor ou maior resistência (NOGUEIRA et al., 1998; PEREIRA et al., 2010; ALVES et al., 2016). O ajustamento osmótico evita a perda de água para o solo de uma forma que o potencial

hídrico (Ψ) da planta se torna mais negativo que o solo (ALBUQUERQUE et al., 2013), fazendo com que haja maior absorção de água pela planta.

Os vegetais superiores sob condições de estresses, quer seja bióticos ou abióticos, acumulam açúcares, prolina livre, ácidos orgânicos, íons, dentre outros solutos (BARTELS e SUNKAR, 2005). Padmavathi e Rao (2013) e Sankar et al. (2014), em estudos com genótipos de amendoim, observaram acúmulo de prolina nas plantas estressadas e ressaltaram que o acúmulo nessas condições sugere uma adaptação das plantas para superar as condições de estresse. Zegaoui et al. (2017) em estudos com feijão também observaram aumento no teor de prolina na faixa de 20 a 30 vezes nas plantas estressadas em relação as plantas controle. Ao atuar na osmorregulação, a prolina auxilia nos processos metabólicos das plantas, uma vez que os processos metabólicos acontecem em meio aquoso.

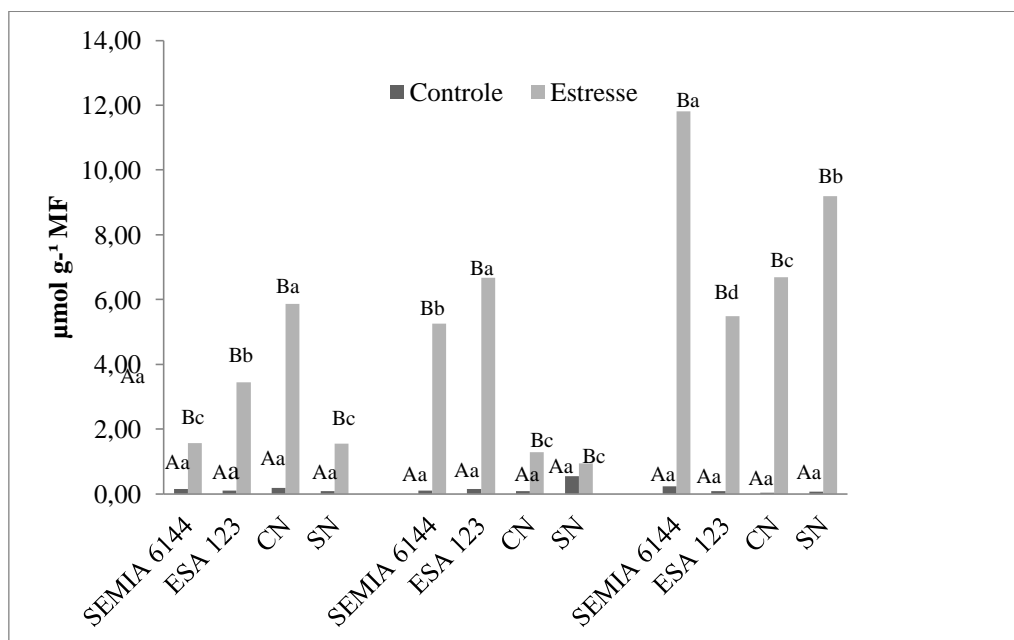


Figura 5. Teor de prolina em genótipos de amendoim submetidos a déficit hídrico. Genótipos IAC Runner 886, 2012-33 e 2012-47, respectivamente. Letras maiúsculas comparando as médias entre os regimes hídricos e minúsculas comparando tratamentos do mesmo regime hídrico (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

5.4 Análises moleculares

Em relação as análises de expressão gênica, observou-se um aumento na

expressão do gene *NCED* nos genótipos inoculados com a estirpe ESA 123 em condições de déficit hídrico. Já para os mesmos genótipos inoculados com a estirpe SEMIA 6144, houve aumento na expressão apenas em IAC Runner 886 (Figura 6).

Uma maior biossíntese de ABA está correlacionada com o aumento na expressão de membros da família *NCED* nos tecidos foliares e radiculares (ZHANG et al., 2008), uma vez que este gene participa no fim da cascata metabólica do ABA. Wan e Li (2006) relata que a expressão ectópica de *AhNCED1* em amendoim (*A. hypogaea* L.) foi correlacionada ao acúmulo de ABA nos tecidos em resposta ao déficit hídrico, o que aumentou a tolerância das plantas ao estresse. É importante ressaltar que o ABA, dentre outras funções, é um hormônio relacionado com a abertura e fechamento estomático. Ao avaliar a figura 2, observamos que houve fechamento estomático, uma vez que houve diminuição da condutância estomática e da transpiração nos tratamentos avaliados, podendo inferir o aumento expressão do gene *NCED* como uma das variáveis que proporcionaram tal resultado.

Apesar de não ter sido analisado a expressão dos genes nos nódulos do presente trabalho, Clement et al. (2008) verificaram em nódulos de soja após 5 dias de estresse, acúmulo de ABA em níveis compatíveis aos obtidos em folhas. O aumento na síntese de ABA nos nódulos pode estar relacionado a tolerância ao déficit hídrico, contribuindo para manutenção da FBN nessas condições (SILVA et al., 2012). Já Tominaga et al. (2010) relataram que o ABA pode regular negativamente estágios de nodulação precoce, inibindo a sinalização do fator Nod. Tal informação pode explicar a diminuição no número de nódulos na maioria dos genótipos investigados, quando inoculados com SEMIA 6144 em condições de déficit hídrico.

Belimov (2014) também relatou que altos níveis de ABA pode reduzir o número de nódulos. Observa-se porém, que isto não foi um fator limitante para o desenvolvimento dos nódulos nos genótipos inoculados com ESA 123. Em tratamentos com abamina, um inibidor do *NCED*, esses autores observaram aumento do número de nódulos. As cepas estudadas P1Y e P6W foram capazes de metabolizar o ABA e diminuir as concentrações do mesmo na planta, por mecanismos bioquímicos ainda não elucidados (BELIMOV, 2014). Isto pode explicar o aumento no número de nódulos no genótipo 2012-47 quando inoculado com SEMIA 6144, que não apresentou aumento na expressão do *NCED*. Vale ressaltar que se faz necessário uma simbiose perfeita planta x bactéria para que se haja benefício mútuo entre os mesmos.

Em relação ao gene *ERF8* observou-se aumento da expressão nos genótipos inoculados com ESA 123 em condições de déficit hídrico. Fujita et al. (2011), Licausi et al. (2013) e Li et al. (2015) relataram que proteínas AP2 e ERF fazem parte das famílias mais importantes de fatores de transcrição em plantas, regulam diversas vias de desenvolvimento e de resposta ao estresse. O aumento na expressão dos genes da família *ERF* em *Arabidopsis* e tabaco conferiram maior resistência a estresses bióticos e abióticos (PARK et al., 2001; BERROCAL-LOBO et al., 2002; XU et al., 2007; PAN et al., 2010). Um melhor desempenho dos genótipos inoculados com ESA 123 em relação a SEMIA 6144, pode estar relacionado ao fato da estirpe ESA 123 ter sido isolada na região nordeste, enquanto que SEMIA 6144 foi isolado na região sul do Brasil (SIZENANDO et al., 2016), o que pode favorecer a interação planta x rizóbio em climas semiáridos e em condições de déficit hídrico, como o do presente trabalho.

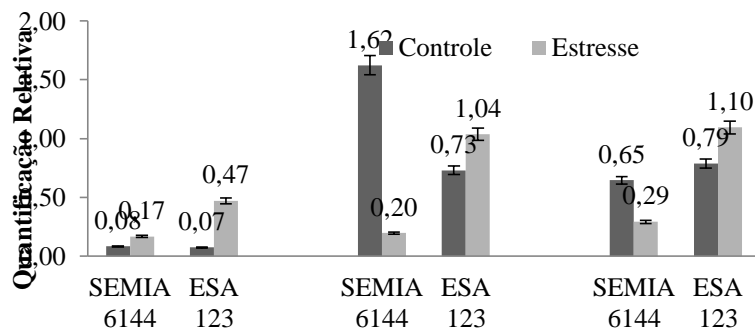
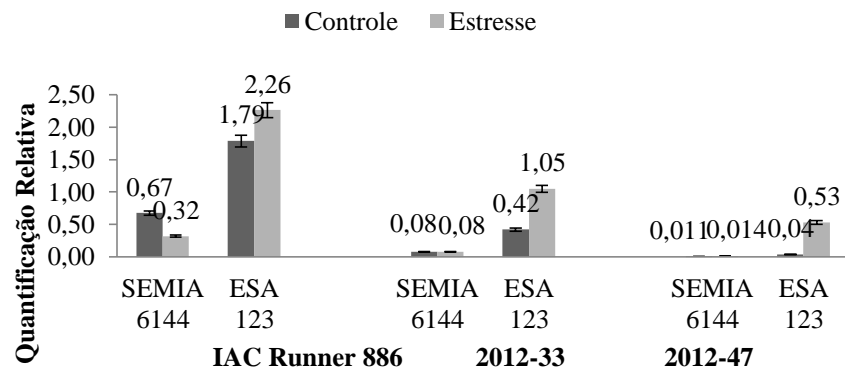
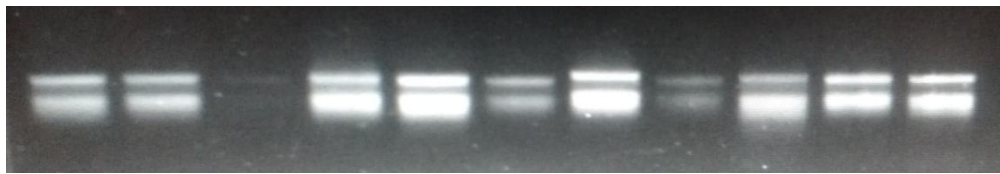


Figura 6: Extração de RNA total de genótipos de amendoim inoculados com *Bradyrhizobium* sob déficit hídrico.

Figura 7. Expressão gênica dos genes *NCED* (A) e *ERF8* (B) em genótipos de amendoim inoculados com *Bradyrhizobium* em condições de déficit hídrico. Genótipos IAC Runner 886, 2012-33 e 2012-47, respectivamente.

Desta forma, observa-se que os genótipos inoculados com ESA 123 obtiveram melhores respostas em condições de déficit hídrico, uma vez que a super expressão dos genes estão intimamente relacionados com a capacidade de sinalização e resposta da planta às condições de estresse, bem como o acúmulo de *NCED* ligado a produção do ABA, importante hormônio sinalizador do estresse e na abertura e fechamento estomático.

6. CONCLUSÕES

√ Considerando uma análise geral, a estirpe ESA 123 contribuiu mais para os genótipos de amendoim submetidos ao déficit hídrico;

√ Os genótipos IAC Runner 886 e 2012-33 tiveram melhores desempenhos de crescimento vegetativo em condições de déficit hídrico, principalmente quando inoculados com ESA 123;

√ Os genótipos inoculados com ESA 123 aumentaram a expressão em condições de déficit hídrico para os dois genes estudados (*NCED* e *ERF8*)

√ Á partir das análises realizadas, aparentemente o genótipo IAC Runner 886, obteve melhor resposta em condições de déficit hídrico, entretanto, faz-se necessário mais estudos.

REFERÊNCIAS

ALVES, G.M.R.; PEREIRA, J.W.L.; LUIZ, L.N.; LIMA, L.M.; SANTOS, R.C.: Genotypic variability of peanut lines in response to water stress, based on biochemical descriptors. **Revista Caatinga**, v. 29, n. 3, p.528 – 526, 2016.

AZEVEDO NETO, A.D. **Aspectos fisiológicos e bioquímicos do estresse salino em plantas de milho**, 149 f. Tese (Doutorado em Bioquímica) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

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**, v. 48, n. 1, p. 9-16, 2013.

ALVES, G.M.R.; PEREIRA, J.W.L.; LUIZ, L.N.; LIMA, L.M.; SANTOS, R.C. Genotypic variability of peanut lines in response to water stress, based on biochemical descriptors. **Revista Caatinga**, v. 29, n. 3, p. 528-526, 2016.

ANJUM, S.A.; XIE, X.Y.; WANG, L.C.; SALEEM, M.F.; MAN, C.; LEI, W. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. **African Journal of Agricultural Research**, v. 6, n. 9, p. 2026-2032, 2011.

ARAÚJO, A.C.; BELTRÃO, N.E.M.; MORAIS, M.S.; ARAUJO, J.L.O.; CUNHA, J.L. X.L.; PAIXÃO, S.L. Indicadores agroeconômicos na avaliação do consórcio algodão herbáceo + amendoim. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 5, p. 1467-1472, 2008.

ARAÚJO, W.F.; FERREIRA, L.G.R. Efeito do déficit hídrico durante diferentes estádios do amendoim. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 32, n. 5, p. 481-484, 1997.

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.

ARRUDA, I.M.; MODA-CIRINO, V.; BURATTO, J.S.; FERREIRA, J.M. Crescimento e produtividade de cultivares e linhagens de amendoim submetidas a déficit hídrico. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 45, n. 2, p. 146-154, 2015.

ÁRTICO, S.; RIBEIRO-ALVES, M.; OLIVEIRA-NETO, O.B.; MACEDO, L.L.P.; SILVEIRA, S.; GROSSI-DE-SÁ, M.F.; MARTINELLI, A.P.; FERREIRA, M.A. Transcriptome analysis of *Gossypium hirsutum* flower buds infested by cotton boll weevil (*Anthonus grandis*) larvae. **BMC Genomics**, v. 15, p. 854, 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.

BARBOSA, D.D. Desenvolvimento vegetativo e parâmetros fisiológicos em genótipos de amendoim sob déficit hídrico e inoculados com *Bradyrhizobium*. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Agrárias), UEPB, Campina Grande, p. 60, 2016.

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.

BELIMOV, A.A.; DODD, I.C.; SAFRONOVA, V.I.; DUMOVA, V.A.; SHAPOSHNIKOV, A.I.; LADATKO, A.G.; DAVIES, W.J. Abscisic acid metabolizing rhizobacteria decrease ABA concentrations in planta and alter plant growth. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 74, p. 84-91, 2014.

BERROCA-LOBO, M.; MIOLINA, A.; SOLANO, R. Constitutive expression of Ethylene-Response-Factor1 in *Arabidopsis* confer resistance to several necrotrophic fungi. **The Plant Journal**, v. 29, n. 1, p. 23-32, 2002.

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

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.

BRASILEIRO, A.C.M.; MORGANTE, C.V.; ARAUHO, A.C.G.; LEAL-BERTIOLI, S.C.M.; SILVA, A.K.; MARTINS, A.C.G.; VINSON, C.C.; SANTOS, C.M.R.; BONFIM, O.; TOGAWA, R.C.; SARAIVA, M.A.P.; BERTIOLI, D.J.; GUIMARAES, P.M. Transcriptome profiling of wild *Arachis* from water-limited environments uncovers drought tolerance candidate genes. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 33, n. 6, p. 1876-1892, 2015.

BRAY; E.A.; BAILEY-SERRES, J.; WERETILNYK, E. Responses to abiotic stress. In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. (Ed.). **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**, p. 1158-1203, 2001.

CATIVELLI, L.; RIZZA, F.; BADECK, F.W.; MAZZUCOTELLI, E.; MASTRANGELO, A.M.; FRANCA, E.; MARÉ, C.; TONDELLI, A.; STANCA, A.M. Drought tolerance improvement in crop plants: an integrated view from breeding to genomics. **Field Crops Research**, v. 105, n. 1, p. 1-14, 2008.

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

CHAVES, M. M.; OLIVEIRA, M.M. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 407, p. 2365-2384, 2004.

CHAVES, M.M.; MAROCO, J.P.; PEREIRA, J.S. Understanding plant responses to drought – from genes to the whole plant. **Functional Plant Biology**, v. 30, p. 239-264, 2003.

CHEN, N.; YANG, Q.; SU, M.; PAN, L.; CHI, X.; CHEN, M.; HE, Y.; YANG, Z.; WANG, T.; WANG, M.; YU, S. Cloning of Six ERF family transcription factor genes

from peanut and analysis of their expression during abiotic stress. **Plant Molecular Biology**, v. 30, p. 1415–1425, 2012.

CHEN, Z.; WANG, M.L.; BARKLEY, N.A.; PITTMAN, R.N. A simple allele-specific PRC assay for detecting FAD2 alleles in both A and B genomes of the cultivated peanut for high-oleate trait selection. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 28, n. 3, p. 542-548, 2010.

CHENG, M.C.; LIAO, P.M.; KUO, W.W.; LIN, T.P. The Arabidopsis ETHYLENE RESPONSE FACTOR₁ regulates abiotic stress-responsive gene expression by binding to different cis-acting elements in response to different stress signals. **Plant Physiology**, v. 162, p. 1566-1583, 2013.

CHI, X.; HU, R.; YANG, Q.; ZHANG, X.; PAN, L.; CHEN, N.; CHEN, M.; YANG, Z.; WANG, T.; HE, Y.; YU, S. Validation of reference genes for gene expression studies in peanut by quantitative real-time RT-PCR. **Molecular Genetic Genomics**, v. 287, p. 167-176, 2012.

CLEMENT, M.; LAMBERT, A.; HEROUART, D.; BONCOMPAGNI, E. Identification of new up-regulated genes under drought stress in soybean nodules. **Gene**, v. 426, p. 15-22, 2008.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Disponível em:** http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_12_01_09_55_21_boletim_d_e_grao_-_2o_lev_2017.pdf Acesso em 05 de Dezembro de 2017.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira: Grãos.** Boletim informativo. Décimo Levantamento. Safra 2016/2017. Brasília, DF, v. 4, n.10 p. 65, 2016.

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

CUNHA, J. B.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.

DARYANTO, S.; WANG, L.; JACINTHE, P-A. Global synthesis of drought effects on food legume production. **Plos One**, v. 10, n. 6, 2015.

DANG, P.M.; CHEN, C.Y.; HOLBROOK, C.C. Identification of genes encoding drought-induced transcription factors in peanut (*Arachis hypogaea* L.). **Journal of Molecular Biochemistry**, p. 196-205, 2012.

DIETZ, K.J.; VOGEL, M.O.; VIEHHAUSER, A. AP2/EREBP transcription factors are part of gene regulatory networks and integrate metabolic, hormonal and environmental signals in stress acclimation and retrograde signaling. **Protoplasma**, v. 245, p. 3-14, 2010.

DILLEHAY, T.D.; ROSSEN, J.; ANDRES, T.C.; WILLIAMS, D.E. Pre-ceramic adaptation of peanut, squash, and cotton in northern Peru. **Science**, v. 316, p. 1890-1893, 2007.

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, p. 189-197, 2015.

ECKER, J.R. The ethylene signal transduction pathway in plants. **Science** v. 268, p. 667-675, 1995.

FAOSTAT. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Food and agriculture statistic data**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/>>. Acesso em: 24 jul. 2017.

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**, v. 42, n. 2, p. 181-188, 2012.

FERREIRA, T.C.; AGUILAR, J.V.; SOUZA, L.A.; JUSTINO, G.C.; AGUIAR, L.F.; CAMARGOS, L.S. pH effects on nodulation and biological nitrogen fixation in *Calopogonium mucunoides*. **Brazilian Journal of Botanic**, v. 39, n. 4, p. 1015-1020, 2016.

FERREIRA, D.F. Sisvar® (Software estatístico): Sistema de análise de variância para dados balanceados, versão 5.6, Lavras: DEX/UFLA, 2010.

FERREIRA, V.M.; MAGALHÃES, P.C.; DURÃES, F.O.M.; OLIVEIRAS, L.E.M.; PURCINO, A.A.C. Metabolismo do nitrogênio associado à deficiência hídrica e sua recuperação em genótipos de milho. **Ciência Rural**, v. 32, p. 13-17, 2002.

FLETCHER, S.M.; SHI, Z. An Overview of world. In: STALKER, H.; WILSON, R. Peanuts **AOCS PRESS**, p. 267-287, 2016.

FRANCO, A.A.; DOBEREINER, J. A biologia do solo e a sustentabilidade dos solos tropicais. **Summa Phytopathologica**, v. 20, p. 68-74, 1994.

FREITAS, G.A. Produção e área colhida de amendoim no nordeste. **3ª ed.** Banco do Nordeste, Fortaleza, 8 p, 2011.

FUJITA, Y.; FUJITA, M.; SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. ABA-mediated transcriptional regulation in response to osmotic stress in plants. **Journal Plant Research**, v. 124, p. 509-525, 2011.

FURLAN, A.L.; BIANUCCI, E.; CASTRO, S.; DIETZ, K.J. Metabolic features involved in drought stress tolerance mechanisms in peanut nodules and their contribution to biological nitrogen fixation. **Plant Science**, p. 12-22, 2017.

GRACIANO, E.S.A.; SANTOS, H.R.B.; NOGUEIRA, R.J.M.C. Trocas gasosas, eficiência fotoquímica e pigmentos fotossintéticos de cultivares de amendoim sob deficiência hídrica no solo. **Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science**, v. 9, n. 1, p. 27-36, 2016.

GRACIANO, E.S.A.; NOGUEIRA, R.J.M.C.; LIMA, D.R.M.; PACHECO, C.M.; SANTOS, R.C. Crescimento e capacidade fotossintética da cultivar de amendoim BR 1

sob condições de salinidade. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 8, p. 794-800, 2011.

GREGORY, P.J.; REDDY, M.S. Root growth in a pearl millet/ground t. **Field Crops Research**, v. 5, p. 241-245, 1982.

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

GONÇALVES, J.A.; PEIXOTO, C.P.; LEDO, C.A.S.; PEIXOTO, M.F.S.P.; SAMPAIO, H.S.V.; SAMPAIO, L.S.V.; ALMEIDA, N.S. Componentes de produção e rendimento de amendoim em diferentes arranjos espaciais no Recôncavo Baiano. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, v. 8, n. 2/3, p. 801-812, 2004.

GONZÁLEZ, E.M.; LARRAINZAR, E.; MARINO, D.; WIENKOOP, S.; GIL-QUINTANA, E.; ARRESELGOR, C. Physiological responses of N₂-fixing legumes to water limitation, in: S. Sulieman, L.S. Tran (Eds.), **Legume Nitrogen Fixation in a Changing Environment –Achievements and Challenges**, p. 5-33, 2015.

GOLLDACK, D.; LI, C.; MOHAN, H.; PROBST, N. Tolerance to drought and salt stress in plants: unraveling the signaling networks. **Frontiers Plant Science**, v. 5, p. 151, 2014.

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.

HAMLIN, G.J. Monitoring plant and soil water status: established and novel methods revisited and their relevance to studies of drought tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, p. 119-130, 2007.

IHUOMA, S.O.; MADRAMOOTOO, C.A. Recent advances in crop water stress detection. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 141, p. 267-275, 2017.

HU, B.; HONG, L.; LIU, X.; XIAO, S.; LV, Y.; LI, L. The higher expression and distribution of 9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase1 (*Ah*NCED1) from *Arachis hypogaea*

L. contribute to tolerance to water stress in a drought-tolerant cultivar. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 35, n. 5, p. 1667-1674, 2013.

HU, H.; XIONG, L. Genetic Engineering and Breeding of Drought-Resistant Crops. **Annual Review of Plant Biology**, v. 65, p. 31-32, 2014.

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**. Londrina: Embrapa soja, v. 283, p. 15, 2007.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja**. Londrina: Embrapa soja, 2001. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/459673/1/circTec35.pdf>>

Acesso em: 01 de Novembro 2017.

ISLEIB, T.G.; PATTE, H.E.; GIESBRECHT, F.G. Oil, sugar, and starch characteristics in peanut breeding lines selected for low and high oil content and their combining ability. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 10, p. 3165-3168, 2004.

ITO, T.M.; RAMPIM, M.C.; POLIDO, P.B.; SOUZA, S.G.H. Fatores de transcrição da família AP2/ERF e resposta em plantas aos estresses abióticos. **Arquivo de Ciências Veterinária e Zoológica**, v. 15, n. 2, p. 207-214, 2012.

JADOSKI, S.O.; KLAR, A.E.; SALVADOR, E.D. Relações hídricas e fisiológicas em plantas de pimentão ao longo de um dia. **Ambiente**, v. 1, n. 1, p. 11-19, 2005.

JOFUKU, K.D.; DEN BOER, B.G.; VAN, M.M.; OKAMURO, J.K. Control of Arabidopsis flower and seed development by the homeotic gene APETALA2. **The Plant Cell**, v. 6, n. 9, p. 1211-1225, 1994.

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

KAMBIRANDA, D.M.; VASANTHAIAH, H.K.N.; KATAM, R.; ANANGA, A.; BASHA, S.M.; NAIK, K. Impact of drought stress on peanut (*Arachis hypogaea* L.) productivity and food safety. **Frontiers in Plant Science**, p. 249-272, 2011.

KATAM, R.; SAUREZ, J.; WILLIAMS, S.; MATTA, F.; GOTTSCHALK, V. Differential expression of transcripts to water deficit stress in Florida hybrid bunch grape. **Florida State Horticultural Society**, v. 126, p. 8-13, 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.

KAVI KISHOR, P.B.; SANGAM, S.; AMRUTHA, R.N.; SRI LAXMI, P.; NAIDU, K.R.; RAO, K.R.S.; RAO, S.; REDDY, K.J.; THERIAPPAN, P.; SREENIVASULU, N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. **Current Science**, v. 88, p. 424-438, 2005.

KERBAUY, G.B. **Fisiologia Vegetal**, 2º ed- Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 51-64, 2008.

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**, v. 64, n. 3, p. 339-347, 2005.

KUROMORI, T.; MIZOI, J.; UMEZAWA, T.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. Drought stress signaling network. In: HOWELL, S. H. (eds.). **Molecular Biology**, p. 383-409. 2014.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RIMA, 2006.

LATA, C.; PRASAD, M. Role of DREBs in regulation of abiotic stress responses in plants. **Journal Experimental Botany**. v. 62, n. 14, p. 4731- 4748, 2011.

LAURIANO, J.A.; LIDON, F.C.; CARVALHO, C.A.; CAMPOS, P.S.; DO CÉU MATOS, M. Drought effects on membrane lipids and photosynthetic activity in different peanut cultivars. **Photosynthetica**, v. 38, n.1, p. 7-12, 2000.

LICAUSI, F.; OHME-TAKAGI, M.; PERATA, P. APETALA2/Ethylene Responsive Factor (AP2/ERF) transcription factors: mediators of stress responses and developmental programs. **New phytologist**, v. 199, p. 639-649, 2013.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-(\Delta\Delta C(T))}$ method. **Methods**, v. 25, n. 4, p. 402-408, 2001.

LOBATO, A.K.S.; SILVEIRA, J.A.G.; COSTA, R.C.L.; NETO, C.F.O. Tolerance to Drought in Leguminous Plants Mediated by *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*. In: AKNCI, S. **Agricultural and Biological Sciences** “Responses of Organisms to Water Stress” January 16 under CC BY 3.0 license. 2013.

MA, S.; GONG, Q.; BOHNERT, H.J. Dissecting salt stress pathways. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, p. 1097-1107, 2006.

MAATHUIS, F.J. Sodium in plants: perception, signalling, and regulation of sodium fluxes. **Journal of Experimental Botany**, v. 65 n. 3, p. 849-858. 2014.

MACHADO, E.C.; SCHMIDT, P.T.; MEDINA, C.L.; RIBEIRO, R.V. Respostas da fotossíntese de três espécies de citros a fatores ambientais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 12, p. 1161- 1170, 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 laranjeira ‘valência’ sobre dois tipos de porta-enxerto. **Bragantia**, v. 67, n. 1, p. 75-82, 2008.

MALAVOLTA, E.; MORAES, M. F. Serie estudos e documentos - O nitrogênio na agricultura brasileira. **CETEM**. Rio de Janeiro, 2006.

MARCONDES, J.; FERRAUDO, A.S.; SCAQUITTO, D.C.; ALVES, L.M.C.; LEMOS, E.G.M. Efetividade na fixação biológica do nitrogênio de bactérias nativas isoladas de plantas de amendoim. **Ciência & Tecnologia**, v.1, n. 1, p. 21-32, 2010.

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.

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.

MIZOI, J.; SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. AP2/ERF family transcription factors in plant abiotic stress responses. **Biochimica Biophysica Acta**, v. 1819, p. 86-96, 2012.

MOREIRA, F.M.S.; DA SILVA, K.; NÓBREGA, R.S.A.; DE CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v. 1, p.74-99, 2010.

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

MULLER, M.; MUNNÉ-BOSCH. Ethylene Response Factors: A key regulatory hub in hormone and stress signaling. **Plant Physiology**, v. 169, p. 32-41, 2015.

MUTCH, L.A.; YOUNG, J.P.W. Diversity and specificity of *Rhizobium* of leguminosarum biovar viciae on wild and cultivated legumes. **Molecular Ecology**, v. 13, n. 8, p. 2435-2444, 2004.

NAUTIYAL, P.C.; RACHAPUTI, N.R.; JOSHI, Y.C. Moisture-deficit-induced changes in leaf-water content, leaf carbon exchange rate and biomass production in groundnut cultivars differing in specific leaf area. **Field Crop Research**, v.74, p. 67-79, 2012.

NAKAGAWA, J.; ROSOLÉM, C. A. O amendoim: tecnologia de produção. Bauru: **Fepaf**, 2011.

NÉMETH, M.; JANDA, T.; HORVÁTH, E.; PÁLDI, E.; SZALAI, G. Exogenous salicylic acid increases polyamine content but may decrease drought tolerance in maize. **Plant Science**, v. 162, n. 4, p. 569-574, 2002.

NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J.R.B.; OYA, T. Tolerância à seca em plantas: Mecanismos fisiológicos e moleculares. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, v. 4, n. 23, p. 12-18, 2001.

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.

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/PB: EMBRAPA, p. 16-44, 2005.

NOGUEIRA, R.J.M.C.; SANTOS, R.C.; NETO, E.B.; SANTOS, V.F. Comportamento fisiológico de duas cultivares de amendoim submetidas a diferentes regimes hídricos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, n. 12, p. 1963-1969, 1998.

O'DONNELL P.J.; CALVERT, C.; ATZORN, R.; WASTERACK, C.; LEYSER, H.M.O.; BOWLES, D. Ethylene as a signal mediating the wound response of tomato plants. **Science**, v. 274, p. 1914–1917, 1996.

OTOBONI, A.M.M.B. Estudo de exopolissacarídeo de bactérias fitopatogênicas. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, v. 6, n. 11, p. 2-7, 2007.

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 Biotechnology**, n. 16, v. 2, p. 151-159, 2013.

PAN, I.C.; LI, C.W.; SU, R.C.; CHENG, C.P.; LIN, C.S.; CHAN, M.T. Ectopic expression of EAR motif deletion mutant of SIERF3 enhances tolerance to salt stress and *Ralstonia solanacearum* in tomato. **Planta**, v. 232, n. 5, p. 1075-1086, 2010.

PARK, J.M.; PARK, C.J.; LEE, S.B.; HAM, B.K.; SHIN, R.S.; PAEK, K.H. Overexpression of the tobacco Tsi1 gene encoding an EREBP/AP2-Type transcription factor enhances resistance against pathogen attack and osmotic stress in tobacco. **The Plant Cell**, v. 12, n. 5, p. 1035-1046, 2001.

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.

PENNINCKX, I.A.; EGGERMONT, K.; TERRAS, F.R.; THOMMA, B.P.; SAMBLAN X, G.W.; BUCHALA, A.; MÉTRAUX, J.P.; MANNERS, J.M.; BROEKAERT, W.F. Pathogen-induced systemic activation of a plant defensin gene in *Arabidopsis* follows a salicylic acid-independent pathway. **Plant Cell**, v. 8, p. 2309-2323, 1996.

PEREIRA, J. W.L.D.E.; ALBUQUERQUE, M.B.; FILHO, P.A.M.; NOGUEIRA, R.J.M.C.; LIMA, L.M.DE.; SANTOS, R.C. Assessment of drought tolerance of peanut cultivars based on physiological and yield traits in a semiarid environment. **Agricultural Water Management**, v. 166, p. 70-76, 2016.

PEREIRA, J. W.L.; SILVA, E.C.A.; LUZ, L.N.; NOGUEIRA, R.J.M.C.; FILHO, P.A.M.; LIMA, L.M.; SANTOS, R. Cluster analysis to select peanut drought tolerance lines. **Australian Journal of crop Science**, v. 9, n. 11, p. 1095-1105, 2015.

PEREIRA, J.W.L.; MELO FILHO, P.A.; ALBUQUERQUE, M.B.; NOGUEIRA, R.M.; 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.

PEREIRA, J.W.L.; ALBUQUERQUE, M.B.; NOGUEIRA, R.J.M.; SANTOS, R.S.; FILHO, P.A.M. Relações hídricas e ajustamento osmótico de genótipos de amendoim submetidos ao déficit hídrico. IV Congresso Brasileiro de Mamona e I Simpósio Internacional de Oleaginosas Energéticas. p. 929-933.2010.

PEREIRA-NETTO, A. B. Crescimento e desenvolvimento. In: WACHOWICZ, C. M.; CARVALHO, R. I. N. (Eds.) **Fisiologia vegetal** - produção e pós-colheita. Curitiba: Champagnat, 2002. p. 17-42.

RAMANJULU, S; BARTELS, D. Drought and desiccation-induced modulation of gene expression. In plants. **Plant, Cell and Environment**. v. 25, p. 141-151, 2002.

RAO, R.C.N.; WRIGHT, G.C. Stability of the relationship between specific leaf area and carbon isotope discrimination across environments in peanut. **Crop Science**, v. 34, n. 1, p. 98-103, 1994.

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. **Acta Toxicológica Argentina**, v. 24, n. 2, p. 97-104, 2016.

SANTOS, D.M.S.; BUSH, A.; SILVA, E.R.; ZUFFO, A.M.; STEINER, F. Bactérias fixadoras de nitrogênio e molibdênio no cultivo do amendoim em solo do Cerrado. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 4, p. 84-92, 2017.

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.

SANTOS, C.C.; GUIMARÃES, S.L.; FARIAS, L.N.; BONFIM-SILVA, E.M.; POLIZEL, A.C. Crescimento inicial de plantas de amendoim inoculadas com rizóbio isolado de feijão caupi. **Enciclopédia Biosfera: Centro Científico Conhecer, Goiânia-GO**, v. 10, n. 18, p. 1097-1105, 2014.

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* e *Aeschynomene americana*. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 2, n. 1, p. 20-27, 2007.

SANTOS, C. E.R.S.; STAMFORD, N.P.; FREITAS, A.D. S.F.; VIEIRA, I. M.M. B.; SOUTO, S.M.; NEVES, M.C.P.; RUMJANEK, N. G. Efetividade de rizóbios isolados de solos da região Nordeste do Brasil na fixação do N₂ em amendoim (*Arachis hypogaea* L.). **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 27, n. 2, p. 301-307, 2005.

SANKAR, B.; GOPINATHAN, P.; KARTHISHWARAN, K.; SOMASUNDARAM, R. Biochemical content variation in *Arachis hypogaea* under drought stress with or without paclobutrazol and abscisic acid. **Journal of Ecobiotechnology**, v. 6, p. 9-14, 2014.

SHARMA, M.K.; KUMAR,R.; SOLANKE, A.U.; SHARMA, R.; TYAGI, A.K.; SHARMA, A.K. Identification, phylogeny, and transcript profiling of ERF family genes during development and abiotic stress treatments in tomato. **Molecular Genetics and Genomics**, v. 284, n. 6, p. 455-475, 2010.

SHINDE, B.M.; LIMAYE, A.S.; DEORE, G.B.; LAWARE, S.L. Physiological responses of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) varieties to drought stress. **Asian Journal of Experimental Biological Sciences**, p. 65-68, 2010.

SHINOZAKI, K.; URANO, D. **Drought Stress**. Encyclopedia of Applied Plant Sciences (Second Edition), p. 8-15, 2017.

SILVA, E.R.S.; BUSH, A.; ZUFFO, A.M.; STEINER, F. Coinoculação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* em sementes de amendoim de diferentes tamanhos. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 4, p. 93-102, 2017.

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, H.A.P.; GALISA, P.S.; OLIVEIRA, R.S.S.; VIDAL, M.S.; SIMÕES-ARAÚJO, J.L. Expressão gênica induzida por estresses abióticos em nódulos de feijão-caupi. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 47, n. 6, p. 797-807, 2012.

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

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**, v. 18, n. 1, p. 34-45. 2011.

SINGH, N.P.; PAL, P.K.; VAISHALI, S.K. Morpho-physiological characterization on Indian wheat genotypes and their evaluation under drought condition. **African Journal of Biotechnology**, v. 13, n. 20, p. 2022-2027, 2014.

SINGH, S.K.; REDDY, K.J. Regulation of photosynthesis, fluorescence, stomatal conductance and water-use efficiency of cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) under drought. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, v. 105, n. 1, p. 40-50, 2011.

SIZENANDO, C.I.T.; RAMOS, J.P.C.; FERNANDES-JÚNIOR, P.I.; LIMA, L.M.; FREIRE, R.M.M.; SANTOS, R.C. Agronomic efficiency of *Bradyrhizobium* in peanut under different environments in Brazilian Northeast. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 37, p. 3482-3487, 2016.

SOUSA, G.G.; AZEVEDO, B.M.; ALBUQUERQUE, A.H.P.; MESQUITA, J.B.R.; VIANA, T.V.A. Características agronômicas do amendoimzeiro sob irrigação com águas

salinas em solo com biofertilizantes. **Revista Agroambiente On-line**, v. 6, n. 2, p. 124-132, 2012.

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, C.R.; SOARES, A.M.; REGINA, M.A. Trocas gasosas de mudas de videira, obtidas por dois porta-enxertos, submetidas a deficiência hídrica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 10, p. 1221-1230, 2001.

SREENIVASULU, N.; RADCHUK, V.; STRICHERT, M.; MIERSCH, O.; WESCHKE, W.; WOBUS, U. Gene expression. Patterns reveal tissue-specific signaling networks controlling programmed cell death and ABA-regulated maturation in developing barley seed. **Plant Journal**, v. 47, n. 2, p. 310-327, 2006.

SUGAWARA, M.; OKAZAKI, S.; NUKUI, N.; EZURA, H.; MITSUI, H.; MINAMISAWA, K. Rhizobitoxine modulates plant-microbe interactions by ethylene inhibition. **Biotechnology Advances**, v. 24, p. 382-388, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.M.; MURPHY, A. Fisiologia e desenvolvimento vegetal. 6^a ed. Artmed, 888p, 2017.

THANGTHONG, N.; JOGLOY, S.; PENSUK, V.; KESMALA, T.; VORASOOT, N. Distribution patterns of peanut roots under different durations of early season drought stress. **Field Crop Research**, v. 198, p. 40-49, 2016.

TOMINAGA, A.; NAGATA, M.; FUTSUKI, K.; ABE, H.; UCHIUMI, T.; ABE, M.; KUCHO, K.I.; HASHIGUCHI, M.; AKASHI, R.; HIRSCH, A.; ARIMA, S.; SUZUKI, A. Effect of abscisic acid in symbiotic nitrogen fixation activity in the root nodules of *Lotus japonicus*. **Plant Signaling & Behavior**, v. 5, n. 4, p. 440-443, 2010.

TRETIN, D.S.; GIORDANI, R.B.; MACEDO, A.J. Biofilmes bacterianos: aspectos gerais, importância clínica e estratégias de combate. **Revista Liberato**, v. 14, n. 22, p. 113-238, 2013.

ULZEN, J.; ABAIDOO, R.C.; MENSAH, N.E.; MASSO, C.; ABDELGADIR, A.H. *Bradyrhizobium* inoculants enhance grain yields of soybean and cowpea in northern Ghana. **Frontiers Plant Science**, v. 7, p. 1770, 2016.

UMEZAWA, T.; NAKASHIMA, K.; MIYAKAWA, T.; KUROMORI, T.; TANOKURA, M.; SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Molecular basis of the core regulatory network in ABA responses: sensing, signaling and transport. **Plant and cell physiology**, v. 51, n. 11, p. 1821-1839, 2010.

United States Department of Agriculture (USDA). Disponível em: <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/psdQuery.aspx>. Acesso em: 03 de Janeiro de 2018.

UPADHYAY, H.D.; SHARMA, S.; SINGH, S.; SINGH, M. Inheritance of drought resistance related traits in two crosses of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). **Euphytica**, v. 177, n. 1, p. 55- 66, 2011.

UMEZAWA, T.; HIRAYAMA, T.; KUROMORI, T.; CHINOSAKI, K. The regulatory networks of plant responses to abscisic acid. In: KADER, J.C.; DELSENY, M. ed. **Advances in Botanical Research**. v.57, p.201-248. Academic Press., 2011.

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, n. 1, p. 1-14, 2011.

VERBRUGGEN, N.; HERMANS, C. Proline accumulation in plants: a review. **Amino Acids**, v. 35, p. 753-759, 2008.

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

WAN, X.R.; LI, L. Regulation of ABA level and water-stress tolerance of *Arabidopsis* by ectopic expression of a peanut 9-*cis*-epoxycarotenoide dioxygenase gene. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 347, p. 1030-1038, 2006.

XU, Z.S.; XIA, L.Q.; CHEN, M.; CHENG, X.G.; ZHANG, R.Y.; LI, L.C.; ZHAO, Y.X.; LU, Y.; NI, Z.Y.; LIU, L.; QIU, Z.G.; MA, Y.Z. Isolation and molecular characterization of the *Triticum aestivum* L. ethylene-responsive-factor 1 (TaERF1) that increases multiple stress tolerance. **Plant Molecular Biology**, v. 65, n. 6, p. 719-732, 2007.

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

YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses. **Annual Review of plant Biology**, v. 57, p. 781-803, 2006.

ZEGAOU, Z.; PLANCHAIS, S.; CABASSA, C.; DJEBBAR, R.; BELBACHIR, O.A.; CAROL, P. Variation in relative water content, proline accumulation and stress gene expression in two cowpea landraces under drought. **Journal of Plant Physiology**, v. 218, p. 26-34, 2017.

ZHANG, Y.; YANG, J.; LU, S.; CAI, J.; GUO, Z. Overexpressing *SgNCED1* in tobacco increases ABA level, antioxidant enzyme activities, and stress tolerance. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 27, n. 2, p. 151-158, 2008.