

**RAFAELA DA SILVA ARRUDA**

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS E DA PRODUÇÃO DO AMENDOIM (*Arachis hypogaea*  
L.) EM RESPOSTA A DIFERENTES CONDIÇÕES DE CULTIVO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Dimas Mendes Ribeiro

**VIÇOSA – MINAS GERAIS  
2024**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

A779a Arruda, Rafaela da Silva, 1993-  
2024 Aspectos fisiológicos e da produção do amendoim (*Arachis  
hypogaea* L.) em resposta a diferentes condições de cultivo /  
Rafaela da Silva Arruda. – Viçosa, MG, 2024.  
1 tese eletrônica (92 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Dimas Mendes Ribeiro.  
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,  
Departamento de Biologia Vegetal, 2024.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.514>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Amendoim - Efeito do etileno. 2. Amendoim -  
Crescimento. 3. Cálcio. 4. Amendoim - Nutrição. 5. Amendoim -  
Rendimento. I. Ribeiro, Dimas Mendes, 1977-. II. Universidade  
Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Vegetal. Programa  
de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. III. Título.

CDD 22. ed. 633.368


**RAFAELA DA SILVA ARRUDA**

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS E DA PRODUÇÃO DO AMENDOIM (*Arachis hypogaea*  
L.) EM RESPOSTA A DIFERENTES CONDIÇÕES DE CULTIVO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.


APROVADA: 27 de maio de 2024.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente  
 **RAFAELA DA SILVA ARRUDA**  
Data: 22/08/2024 16:35:13-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Rafaela da Silva Arruda  
Autora

Documento assinado digitalmente  
 **DIMAS MENDES RIBEIRO**  
Data: 27/08/2024 09:24:37-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Dimas Mendes Ribeiro  
Orientador

*À minha família.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por me permitir chegar até aqui.

À minha amada família, pelo amor, compreensão, apoio, confiança e incentivo em todos os momentos.

Ao professor Dimas Ribeiro, pela inestimável orientação e valiosa contribuição à minha formação profissional.

À Doutora Genaina Souza, pela disponibilidade, apoio e auxílio nas análises e pelos conhecimentos e aconselhamentos transmitidos.

Aos professores Adriano Nunes Nesi, Wagner Luiz Araujo, Nilo César Queiroga Silva e à Doutora Thaline Martins Pimenta, membros da banca examinadora, pela valiosa colaboração e contribuição a este trabalho.

Aos meus colegas do Laboratório de Crescimento e Desenvolvimento de Plantas, Thaline, Lubia, e Victor Alves pelo auxílio na execução das análises e agradável convivência.

Aos meus colegas da pós-graduação July, Mário, Nicolas, Nardele, Renan, Fernanda, Mirelle, Marcelo, Jean, Paula (*in memoriam*), Rita de Cássia, Maria Carolina, Thaline, Gena, Lubia, Léo, Bárbara e Pablo, pelo bom humor, amizade e pelos momentos de descontração, incentivos e companheirismo.

Aos meus amigos do Ministério Universidade Renovadas (MUR), em especial Natália, Gustavo, Poly, Isa, Giovana, Carla, e Bárbara pelas orações, partilhas, palavra de motivação e consolo, principalmente em momentos difíceis, pela convivência com muita alegria, diversão e amizade.

Aos técnicos Guilherme, Vitor, José Antônio, Reginaldo, Zé Maurício e Geraldo pelo auxílio durante a execução dos experimentos.

Aos professores Fernando Finger e Wellington pelo fornecimento da casa de vegetação.

Aos funcionários da Unidade de Pesquisa e Extensão do Departamento de Agronomia da UFV – Horta Nova, pela acolhida, colaboração e auxílio na condução do experimento.

Aos funcionários da Secretaria do Programa de Fisiologia Vegetal por serem sempre solícitos.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

Ao Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal, pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal, pela valiosa contribuição à minha formação acadêmica e profissional.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

*“Na vida, não existe nada a temer, mas a entender”*

(Marie Curie)

## RESUMO

ARRUDA, Rafaela da Silva, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2024. **Aspectos fisiológicos e da produção do amendoim (*Arachis hypogaea* L.) em resposta a diferentes condições de cultivo.** Orientador: Dimas Mendes Ribeiro.

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é uma importante espécie agrícola cultivada para a produção de óleo e proteína. Para o aspecto de produção, o estabelecimento das plântulas é uma etapa fundamental, pois trata-se de uma fase crítica do desenvolvimento inicial das plântulas, sendo influenciada pela profundidade de plantio. Estudos têm constatado que sob diferentes profundidades de plantio, o crescimento do hipocótilo afeta o estabelecimento das plântulas causado, possivelmente, por modificações nos níveis de hormônios. O etileno pode estar envolvido no controle do crescimento do hipocótilo e da raiz das plântulas de amendoim. No entanto, as inter-relações entre a profundidade de plantio, etileno e metabolismo central na regulação do desenvolvimento das plantas amendoim são pouco compreendidas. Ademais, o amendoim é a única espécie de importância econômica que apresenta desenvolvimento geocárpico das vagens, no qual o ginóforo é o órgão especializado de crescimento geotrópico positivo, que apresenta em sua extremidade o ovário. Interessantemente, a falha na penetração do ginóforo no solo induz o aborto da semente. Há relatos de que o desenvolvimento embrionário e a formação da semente do amendoim são influenciados por fatores ambientais, hormonais e nutricionais. Neste contexto, as hipóteses de que o etileno induz alterações no crescimento e na produção de plantas de amendoim e que modificações no metabolismo primário e na absorção de minerais pelos ginóforos podem estar associadas ao desenvolvimento das sementes do amendoim foram investigadas. Os resultados mostraram que a germinação e a produção de etileno de sementes dos cultivares IAPAR 25 e Tatu Vermelho foram inibidas por solução de aminoetoxivinilglicina (AVG), um inibidor da biossíntese de etileno. Assim a inibição da AVG na germinação daquelas sementes parece uma consequência da inibição da produção de etileno. Além disso, a produção de etileno das sementes foi progressivamente inibida com o aumento da profundidade de plantio, o que induziu alterações no crescimento das plântulas, mas não afetou a produção das cultivares de amendoim. Ademais, a morfologia dos ginóforos do amendoim foi alterada pelos substratos de cultivo, períodos de incubação e pela concentração de cálcio no substrato de desenvolvimento dos ginóforos. Em geral, as maiores concentrações de açúcares totais foram observadas nos ginóforos incubados em vermiculita, areia e substrato comercial em relação aos ginóforos desenvolvidos fora de um meio de

incubação (ginóforos aéreos). Assim, os ginóforos aéreos apresentaram reduções nos níveis de açúcares e maior consumo de O<sub>2</sub>. Entretanto, maiores níveis de fósforo, potássio, cálcio, zinco, ferro e cobre foram observados nos ginóforos aéreos em relação aos ginóforos desenvolvidos em vermiculita, areia e substrato comercial. As alterações na anatomia dos embriões foram observadas aos 15 dias de incubação nos substratos, contudo, não foi possível identificar o aborto de embriões. Ademais, a disponibilidade dos nutrientes dos meios de incubação (vermiculita, areia e substrato comercial) dos ginóforos influenciou as concentrações de minerais nos ginóforos, especialmente a concentração de cálcio. Assim, o desenvolvimento das sementes mostrou-se maior em ginóforos tratados com solução de cálcio. Este estudo apresenta novas perspectivas em relação a ação do etileno e profundidade de plantio em determinar o crescimento e estabelecimento de plântulas, além de como a absorção de minerais pelos ginóforos pode atuar modulando o desenvolvimento da semente e fruto do amendoim.

Palavras-chave: Etileno; Crescimento de planta; Fruto geocárpico; Cálcio; Nutrição mineral; Produtividade.

## ABSTRACT

ARRUDA, Rafaela da Silva, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, May, 2024. **Physiological and production characteristics of peanut (*Arachis hypogaea* L.) in response to different growing conditions.** Adviser: Dimas Mendes Ribeiro.

Peanut (*Arachis hypogaea* L.) is an important agricultural species grown for oil and protein production. Seedling establishment is a crucial step from a productive perspective. This critical phase of initial development is influenced by planting depth. Studies have found that hypocotyl growth under different planting depths influences seedling establishment, possibly due to changes in hormone levels. Ethylene may be involved in controlling hypocotyl and root growth in peanut seedlings. However, the interrelationships between planting depth, ethylene production, and central metabolism in regulating the development of peanut plants are poorly understood. Furthermore, peanut is the only economically important crop characterized by geocarpic development. In this process, the gynophore serves as a specialized organ with positive geotropic growth, with the ovary at its end. Interestingly, failure of the gynophore to penetrate the soil induces seed abortion. There are reports that peanut embryonic development and seed formation are influenced by environmental, hormonal, and nutritional factors. In light of the above, this study investigated the hypotheses that ethylene alters the growth and yield of peanut crops and that modifications in primary metabolism and mineral absorption by gynophores influence the development of peanut seeds. The results showed that seed germination and ethylene production in peanut IAPAR 25 and Tatu Vermelho were inhibited by a solution containing aminoethoxyvinylglycine (AVG), an inhibitor of ethylene biosynthesis. Thus, AVG-induced inhibition of seed germination seems to be a consequence of the inhibition of ethylene production. Additionally, ethylene production was progressively inhibited with increasing planting depth, which induced changes in seedling growth but did not affect the yield of either peanut cultivar. It was also found that the morphology of peanut gynophores was influenced by culture substrate, incubation period, and calcium concentration. In general, total sugar concentrations were higher in gynophores incubated in vermiculite, sand, and commercial substrate than in gynophores developed without contact with the incubation medium (aerial gynophores). Aerial gynophores showed reduced sugar levels and increased O<sub>2</sub> consumption. However, higher levels of phosphorus, potassium, calcium, zinc, iron, and copper were observed in aerial gynophores than in gynophores developed in vermiculite, sand, and commercial substrate. Embryos showed anatomical alterations at 15 days after incubation in

substrates. However, embryo abortion was not identified. Nutrient availability in incubation media (vermiculite, sand, and commercial substrate) influenced mineral concentrations in gynophores, particularly that of calcium. Seed development was higher in gynophores treated with calcium solution. This study presents new perspectives on the action of ethylene and planting depth in determining the growth and establishment of seedlings, as well as how the absorption of minerals by the gynophores can act to modulate the development of the peanut seed and fruit.

**Keywords:** Ethylene; Plant growth; Geocarpic fruit; Calcium; Mineral nutrition; Yield.

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL .....	13
REFERÊNCIAS .....	17
CAPÍTULO 1 – Relações entre a produção de etileno e a profundidade de plantio no crescimento e na produção do amendoim.....	19
Resumo .....	19
Abstract.....	20
1 Introdução .....	21
2 Material e métodos .....	23
2.1 Material vegetal e condução dos experimentos .....	23
2.2 Quantificação de etileno nas sementes de amendoim .....	24
2.3 Avaliação do crescimento vegetativo das plântulas de amendoim .....	25
2.4 Avaliação do desenvolvimento reprodutivo das plantas de amendoim.....	26
2.5 Trocas gasosas e fluorescência da clorofila <i>a</i> .....	26
2.6 Análises estatísticas .....	27
3 Resultados.....	27
4 Discussão .....	45
5 Conclusões.....	50
6 Referências .....	51
CAPÍTULO 2 – Aspectos fisiológicos do desenvolvimento do ginóforo em resposta a diferentes níveis nutricionais.....	55
Resumo .....	55
Abstract.....	56
1 Introdução .....	57
2 Material e métodos .....	60
2.1 Material vegetal e condução dos experimentos.....	60
2.2 Caracterização dos substratos de incubação .....	61
2.3 Quantificação dos parâmetros morfológicos .....	62
2.4 Quantificação da respiração dos ginóforos.....	62
2.6 Quantificação dos níveis metabólicos .....	62
2.7 Análise anatômica .....	63
2.8 Quantificação dos níveis de macro e micronutrientes .....	63
2.9 Análises estatísticas .....	63
3 Resultados.....	64

4 Discussão .....	80
5 Conclusões.....	86
7 Referências .....	87
CONCLUSÕES GERAIS .....	92

## INTRODUÇÃO GERAL

O ciclo de desenvolvimento das plantas superiores inicia-se com a germinação da semente e termina com a produção e maturação da semente (Salem et al., 2017). Durante esses estágios, a planta passa por diversos eventos fisiológicos e para garantir sua sobrevivência e o sucesso reprodutivo, a planta deve ajustar seu crescimento e desenvolvimento aos estímulos ambientais. Neste contexto, as vias de sinalização hormonal coordenam o controle do desenvolvimento das plantas com as condições do ambiente (Yu & Huang, 2017; Anfang & Shani, 2021). Dentre os hormônios vegetais, o etileno, de natureza gasosa, é um importante regulador metabólico e de desenvolvimento das plantas, afetando processos fisiológicos, desde a germinação das sementes até a floração das plantas (Ketring & Morgan, 1972; Dubois et al., 2018; Ahammed et al., 2020).

Nos tecidos vegetais, a biossíntese do etileno pode ser induzida durante os estágios de desenvolvimento, como germinação, amadurecimento do fruto, abscisão de folhas e senescência de flores (Yang & Hoffman, 1984). Na germinação de sementes, o etileno atua por meio de interação antagônica com o ácido abscísico e ação sinérgica com as giberelinas (Ahammed et al., 2020). A emergência das plântulas e o crescimento das raízes também são regulados pelo etileno (Qin & Huang 2018). Contudo, sob o solo, a biossíntese de etileno pode sofrer alterações. Por exemplo, em resposta a compactação do solo, a biossíntese de etileno é induzida pelo aumento da profundidade de plantio da semente (Li et al., 2021). Ademais, é interessante notar que com o aumento da profundidade de plantio há uma maior demanda de energia para a emergência das plântulas, logo, sementes cultivadas sob altas profundidades de plantio podem não ter reservas de carbono suficientes para que a plântula possa emergir (Jørgensen et al., 2019).

Além disso, sabe-se que muitas espécies produzem etileno durante a germinação, como é o caso das sementes de amendoim. O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é a única cultura de importância econômica que apresenta desenvolvimento geocárpico das vagens, caracterizado pela formação do fruto subterrâneo (Zhang et al., 2016; Yang et al., 2020; Zhao et al., 2020). Apesar do cultivo do amendoim ser muito explorado, as informações sobre o desenvolvimento reprodutivo, após a fertilização da flor, ainda são incipientes, principalmente no que se refere aos níveis de minerais no solo relacionados ao aborto das sementes.

O solo é um dos principais componentes do sistema de produção agrícola. Em ambientes agrícolas, as características do solo, como disponibilidade hídrica, teor de matéria orgânica, atributos físicos e níveis nutricionais também atuam diretamente sobre o crescimento e desenvolvimento das plantas. De modo geral, os nutrientes minerais têm um papel chave no metabolismo vegetal (Ahanger et al., 2016). Por exemplo, o nitrogênio fornece grupos amino em aminoácidos, o fósforo é constituinte de estruturas de macromoléculas, o potássio atua na ativação de enzimas, o cálcio tem funções estruturais e como mensageiro secundário, o magnésio é constituinte da molécula de clorofila e o enxofre é componente dos aminoácidos cisteína e metionina (Marschner 1995; Maathuis 2009; Bang et al., 2021). Essas funções são evidentes durante o desenvolvimento de embriões de sementes, no qual há uma grande exigência por nutrientes minerais, para fosforilação e síntese de proteínas, expansão celular e composição de ácidos nucleicos e lipídios da membrana (Marschner 1995).

Na produção e rendimento do amendoim, os níveis nutricionais do solo são importantes para a formação da semente (Kumar et al., 2019). Pesquisas mostraram resultados interessantes do efeito da deficiência de cálcio no solo na formação do fruto do amendoim (Chen et al., 2016; Yang et al., 2017; Yang et al., 2020). Por exemplo, em plantas de amendoim cultivadas sob deficiência de cálcio no solo, a produção e qualidade das vagens foi afetada por efeitos relacionados à deficiência do cálcio, demonstrando a relação entre o cálcio e a formação do

fruto do amendoim (Chen et al., 2016; Yang et al., 2017; Kadirimangalam et al., 2022). Com relação a translocação do cálcio em plantas de amendoim, não ocorre transporte do cálcio do floema para os frutos em desenvolvimento, em razão do acúmulo de cálcio na forma de pectato de cálcio nas folhas (Kadirimangalam et al., 2022). Desse modo, o cálcio necessário para o desenvolvimento das vagens do amendoim é absorvido pelo ginóforo diretamente do solo (Yang et al., 2020).

A regulação do desenvolvimento do ginóforo e das sementes de amendoim, envolve várias vias de sinalização e diferentes vias regulatórias em ambos os níveis transcricionais e pós-transcricionais (Kadirimangalam et al., 2022). Para identificar o mecanismo de ação do cálcio dentro das vagens, a tecnologia microRNA é uma opção apontada pela pesquisa. Vários microRNAs conservados e novos em órgãos de amendoim como folhas, raízes e caules foram identificados por meio da tecnologia de sequenciamento de alto rendimento. Um estudo com ginóforos de amendoim em três estágios de desenvolvimento, (S1-ginóforo aéreo de 3–5 cm; S2 – 3 dias após a penetração do ginóforo no solo; S3 – 9 dias após a penetração do ginóforo no solo), usando 13 milhões de sequências curtas relata que várias enzimas participam da biossíntese e sinalização de hormônios e também da sinalização por luz e são alterados durante o desenvolvimento do ovário (Xia et al., 2013). O estudo dos genes alvos associados as diferentes vias metabólicas envolvidas no desenvolvimento do amendoim ajudarão a entender o papel do cálcio no desenvolvimento da vagem (Kadirimangalam et al., 2022).

Atualmente, foram identificadas 69 proteínas envolvidas no desenvolvimento do amendoim, 91 proteínas no ginóforo aéreo, 35 proteínas no ginóforo subterrâneo e 26 proteínas no desenvolvimento inicial das vagens (Yang et al., 2017). Dessas, cerca de 26 proteínas foram identificadas nos estágios iniciais de desenvolvimento da vagem, envolvendo cinco genes relacionados ao cálcio, como proteína de ligação ao cálcio, calmodulina 5, proteína dependente de cálcio serina/treonina quinase, transportador ATPase do retículo endoplasmático e proteínas

da família EF-hand de ligação ao cálcio, indicando o papel do cálcio na regulação gênica do desenvolvimento inicial da vagem do amendoim (Kadirimangalam et al., 2022).

Em outro estudo em quatro estágios de desenvolvimento da vagem (1º, 5º, 10º e 20º dia após a penetração do ginóforo no solo), foi analisada a associação entre exsudação de cálcio e o desenvolvimento da vagem. A análise do transcriptoma comparando os estágios identificou um total de 4.457 genes expressos diferencialmente (Li et al., 2017). Destes, 53 genes estavam relacionados ao cálcio, 40 genes relacionados as auxinas, 20 genes relacionados ao etileno, 15 genes as giberelinas, 7 genes relacionados as citocininas e 2 genes relacionados ao ácido abscísico (Li et al., 2017). Neste estudo os autores concluíram que o desenvolvimento da vagem pode ser controlado pela regulação hormonal e por vias de transdução de sinal de cálcio. Uma análise comparativa do transcriptoma de ginóforos e vagens de amendoim sob condições de disponibilidade ideal e deficiência de cálcio revelou que a disponibilidade de cálcio se associa a expressão diferencial de genes entre ginóforos (Yang et al., 2020). Durante a suficiência de cálcio, há uma regulação positiva de genes relacionados com as vias de sinalização, evidenciando que a aplicação exógena de cálcio pode ajudar no desenvolvimento da vagem, pois a sinalização de cálcio, promove o desenvolvimento dos diferentes estágios dos ginóforos (Yang et al., 2020).

Considerando o amplo interesse agrônômico do amendoim, tanto para a obtenção de óleo e proteína para alimentação humana (Liu et al., 2020), quanto como matéria-prima para a produção de biodiesel (Asadu et al., 2024), o presente estudo propôs investigar os efeitos do etileno no crescimento e na produção do amendoim e como a nutrição mineral controla os aspectos fisiológicos do desenvolvimento do ginóforo e formação das sementes do amendoim. Assim, a presente Tese foi desenvolvida em dois capítulos, o primeiro analisou efeito da biossíntese do etileno na germinação de sementes bem como no crescimento e desenvolvimento de plantas de amendoim. No segundo capítulo avaliou-se as respostas no desenvolvimento do

ginóforo, incubados em substratos com diferentes níveis nutricionais e o efeito do cálcio, abordando modificações morfológicas, bioquímicas e anatômicas, bem como absorção de minerais durante o desenvolvimento da semente.

## REFERÊNCIAS

- Ahamed, G. J., Gantait, S., Mitra, M., Yang, Y., & Li, X. (2020). Role of ethylene crosstalk in seed germination and early seedling development: A review. *Plant Physiology and Biochemistry*, 151, 124-131.
- Ahanger, M. A., Morad-Talab, N., Abd-Allah, E. F., Ahmad, P., & Hajiboland, R. (2016). Plant growth under drought stress: Significance of mineral nutrients. *Water stress and crop plants: a sustainable approach*, 2, 649-668.
- Anfang, M., & Shani, E. (2021). Transport mechanisms of plant hormones. *Current Opinion in Plant Biology*, 63, 102055.
- Asadu, C. O., Ekwueme, B. N., Ezema, C. A., Onah, T. O., Ike, I. S., Ugwuele, J. O., Aka, C. C., Maxwell, O. I., Umeagukwu, E. O., & Ogbonna, C. C. (2024). Recycled waste groundnut oil: A potential feedstock for green energy/biodiesel synthesis. *Unconventional Resources*, 4, 100081.
- Bang, T. C., Husted, S., Laursen, K. H., Persson, D. P., & Schjoerring, J. K. (2021). The molecular–physiological functions of mineral macronutrients and their consequences for deficiency symptoms in plants. *New Phytologist*, 229, 2446-2469.
- Brenya, E., Dutta, E., Herron, B., Walden, L. H., Roberts, D. M., & Binder, B. M. (2023). Ethylene-mediated metabolic priming increases photosynthesis and metabolism to enhance plant growth and stress tolerance. *PNAS nexus*, 2, 216.
- Dubois, M., Van den Broeck, L., & Inzé, D. (2018). The pivotal role of ethylene in plant growth. *Trends in Plant Science*, 23, 311-323.
- He, D., Guo, H., He, S., Zhang, M., Chang, Y., Wang, Z., & Liu, Y. (2023). Transcriptome analysis reveals the role of phytohormones in the distant hybridization of peony embryo abortion. *Horticulturae*, 9, 694.
- Jørgensen, M. S., Labouriau, R., & Olesen, B. (2019). Seed size and burial depth influence *Zostera marina* L. (eelgrass) seed survival, seedling emergence and initial seedling biomass development. *PloS one*, 14, e0215157.
- Kadirimangalam, S. R., Sawargaonkar, G., & Choudhari, P. (2022). Morphological and molecular insights of calcium in peanut pod development. *Journal of Agriculture and Food Research*, 9, 100320.
- Ketring, D. L., & Morgan, P. W. (1972). Physiology of Oil Seeds: IV. Role of endogenous ethylene and inhibitory regulators during natural and induced afterripening of dormant virginia-type peanut seeds. *Plant Physiology*, 50, 382-387.

- Kumar, R., Pandey, M. K., Roychoudhry, S., Nayyar, H., Kepinski, S., & Varshney, R. K. (2019). Peg biology: deciphering the molecular regulations involved during peanut peg development. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1289.
- Li, X., Kong, X., Zhou, J., Luo, Z., Lu, H., Li, W., Tang, W., Zhang, D., Ma, C., Zhang, H., & Dong, H. (2021). Seeding depth and seeding rate regulate apical hook formation by inducing GhHLS1 expression via ethylene during cotton emergence. *Plant Physiology and Biochemistry*, 164, 92-100.
- Liu, H., Liang, X., Lu, Q., Li, H., Liu, H., Li, S., Varshney, R., Hong, Y., & Chen, X. (2020). Global transcriptome analysis of subterranean pod and seed in peanut (*Arachis hypogaea* L.) unravels the complexity of fruit development under dark condition. *Scientific Reports*, 10, 1-12.
- Maathuis, F. J. (2009). Physiological functions of mineral macronutrients. *Current Opinion in Plant Biology*, 12, 250-258.
- Marschner, H. (1995). *Mineral nutrition of higher plants* 2<sup>nd</sup> edn. Institute of Plant Nutrition University of Hohenheim: Germany.
- Salem, M. A., Li, Y., Wiszniewski, A., & Giavalisco, P. (2017). Regulatory-associated protein of TOR (RAPTOR) alters the hormonal and metabolic composition of *Arabidopsis* seeds, controlling seed morphology, viability and germination potential. *The Plant Journal*, 92, 525-545.
- Yang, S. F., & Hoffman, N. E. (1984). Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Annual review of plant physiology*, 35, 155-189.
- Yang, S., Wang, J., Tang, Z., Guo, F., Zhang, Y., Zhang, J., Meng, J., Zheng, L., Wan, S., & Li, X. (2020). Transcriptome of peanut kernel and shell reveals the mechanism of calcium on peanut pod development. *Scientific Reports*, 10, 1-13.
- Yu, Y., & Huang, R. (2017). Integration of ethylene and light signaling affects hypocotyl growth in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science*, 8, 57.
- Zhang, Y., Wang, P., Xia, H., Zhao, C., Hou, L., Li, C., Gao, C., Zhao, S., & Wang, X. (2016). Comparative transcriptome analysis of basal and zygote-located tip regions of peanut ovaries provides insight into the mechanism of light regulation in peanut embryo and pod development. *BMC Genomics*, 17, 1-13.
- Zhao, X., Li, C., Zhang, H., Yan, C., Sun, Q., Wang, J., Yuan, Y., & Shan, S. (2020). Alternative splicing profiling provides insights into the molecular mechanisms of peanut peg development. *BMC Plant Biology*, 20, 1-15.

## **CAPÍTULO 1 – Relações entre a produção de etileno e a profundidade de plantio no crescimento e na produção do amendoim**

### **Resumo**

Este estudo descreve o efeito do etileno na germinação de sementes bem como no crescimento e desenvolvimento de plantas de amendoim (*Arachis hypogaea* L.). Sementes de duas cultivares (IAPAR 25 e Tatu Vermelho) de amendoim foram embebidas em água deionizada (controle), solução de ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano (ACC), e em solução de aminoetoxivinilglicina (AVG) para examinar se o etileno estaria envolvido no processo de germinação das sementes. A velocidade de germinação das sementes das cultivares foi aumentada em resposta ao tratamento com ACC, o qual, manteve uma estreita relação com a alta produção de etileno pelas sementes. Por outro lado, o tratamento com AVG, um o inibidor da biossíntese do etileno, reduziu a produção de etileno e a germinação das sementes. Juntos esses resultados sugerem que a germinação das sementes das cultivares IAPAR 25 e Tatu Vermelho tenha ocorrido via produção do regulador gasoso. Para avaliar se a profundidade de plantio das sementes controla a crescimento da plântula pela regulação na biossíntese de etileno, sementes de amendoim, foram semeadas nas profundidades de 0, 2,5, 5,0 10 e 15 cm, em canos de PVC (10 cm de diâmetro e 30 cm de comprimento), contendo substrato comercial. O aumento da profundidade de plantio reduziu progressivamente a produção de etileno, mas não afetou a germinação das sementes de amendoim. Interessantemente, as altas e baixas concentrações de etileno das sementes sinalizaram para uma redução no desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular das plântulas de amendoim. Entretanto, a alteração na produção de etileno em resposta à profundidade de plantio não alterou as características de produtividade das cultivares de amendoim. Em conjunto, estes resultados mostram uma flexibilidade do etileno na modulação da germinação das sementes, emergência das plântulas e produção das cultivares de amendoim avaliadas no presente estudo.

Palavras-chave: *Arachis hypogaea* L.; Etileno; Germinação; Profundidade de plantio; Produtividade; Trocas gasosas.

### **Relationships between ethylene production and planting depth on peanut growth and yield**

#### **Abstract**

This study describes the effect of ethylene on seed germination and on the growth and development of peanut (*Arachis hypogaea* L.). Seeds of two peanut cultivars (IAPAR 25 and Tatu Vermelho) were imbibed in deionized water (control), 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) solution, and aminoethoxyvinylglycine (AVG) solution to examine whether ethylene is involved in the seed germination process. ACC treatment increased the rate of seed germination in both cultivars. This effect was strongly related to the increased ethylene production by seeds. By contrast, treatment with AVG, an inhibitor of ethylene biosynthesis, resulted in decreased ethylene production and seed germination. Taken together, these results suggest that seed germination in IAPAR 25 and Tatu Vermelho occurred via ethylene production. For assessment of whether planting depth influences seedling growth via regulation of ethylene biosynthesis, peanut seeds were sown at depths of 0, 2.5, 5.0, 10, and 15 cm in PVC pipes (10 cm in diameter and 30 cm in length) containing commercial substrate. As planting depth increased, ethylene production decreased progressively, but peanut germination remained unaffected. Notably, variations in ethylene levels influenced shoot and root development, with both high and low concentrations resulting in reduced growth. However, despite changes in ethylene production resulting from planting depth, yield parameters were not significantly altered. The findings demonstrate the role of ethylene in modulating seed germination, seedling emergence, and yield in the peanut cultivars examined in this study.

Keywords: *Arachis hypogaea* L.; Ethylene; Germination; Planting depth; Yield; Gas exchange.

## 1 Introdução

A produção e produtividade dos cultivos agrícolas é dependente das etapas iniciais do desenvolvimento das plântulas. Além disso, a integração de fatores do ambiente e sinais hormonais é determinante para o crescimento e desenvolvimento das plântulas. Durante o ciclo de vida das plantas, a germinação e o estabelecimento das plântulas são etapas críticas para a sobrevivência e para a produção, visto que, estes fatores determinam o sucesso da colheita (Finch-Savage & Bassel 2016). O estabelecimento das plântulas inicia-se com a germinação da semente, seguido da emergência e crescimento heterotrófico, e finaliza-se com o crescimento autotrófico das plântulas (Gommers & Monte 2018). Por sua vez, o estabelecimento das plântulas depende da formação do gancho apical e do alongamento do hipocótilo (Gommers & Monte 2018; Zhang et al., 2021). Nas eudicotiledôneas, o hipocótilo é o caule embrionário que conecta as duas folhas embrionárias à raiz primária (Zhang et al., 2021; Vissenberg 2021). Após a germinação, a região apical do hipocótilo curva-se para baixo, formando o gancho apical, que protege o meristema apical caulinar dos danos mecânicos durante a emergência do solo (Huang et al., 2020).

O crescimento do hipocótilo envolve respostas às alterações nos níveis de hormônios (Yu & Huang 2017). O etileno promove o alongamento do hipocótilo na presença de luz e a formação do gancho apical, mas inibe estes processos no escuro (Ahammed et al., 2020; Huang et al., 2020; Li et al., 2021). O crescimento radicular também é afetado por hormônios, em particular o etileno (Qin & Huang 2018). O etileno inibe o crescimento radicular a partir da regulação da proliferação celular no meristema apical radicular e da expansão das células na zona de alongamento (Qin, He & Huang 2019). No entanto, pouco se conhece sobre o efeito do

etileno no crescimento e desenvolvimento das plântulas, bem como na sobrevivência das plântulas em resposta à profundidade de plantio.

O etileno é um hormônio gasoso derivado do aminoácido metionina. Na sua rota de biossíntese a metionina é convertida em *S*-adenosilmetionina (SAM), por ação da enzima sintase da SAM que, por sua vez é metabolizada em ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano (ACC), pela ação da enzima sintase do ACC (ACS). A etapa final da biossíntese do etileno é mediada pela enzima oxidase do ACC (ACO), que catalisa a conversão do ACC a etileno (Dubois et al., 2018). O ACC é um aminoácido não-proteico precursor imediato do etileno na sua rota de biossíntese (Van de Poel & Van der Straeten, 2014). A aplicação exógena do ACC tem sido muito estudada por resultar em uma rápida produção de etileno nos tecidos vegetais (Houben & Van de Poel, 2018; Polko & Kieber, 2019). Outro ponto de interesse, é a atuação do ACC como uma molécula sinalizadora em plantas, independente da biossíntese de etileno (Pattyn et al., 2021). Ademais, o ACC parece estar envolvido na regulação de vários processos do desenvolvimento, como divisão celular, expansão celular, e germinação de sementes de estilozante e amendoim (Pelacani et al., 2005; Polko & Kieber, 2019).

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é uma espécie endêmica da América do Sul, e suas sementes são ricas em óleo (48–50%), proteína (25–28%) e carboidratos (10–20%) (Liu et al., 2020). Atualmente, o amendoim é cultivado em 29,5 milhões de hectare em todo o mundo, com uma produção total de 50 milhões de toneladas em 2019 (FAOSTAT, 2021). O amendoim é uma espécie de germinação epígea e suas sementes produzem etileno durante a germinação (Ketring & Morgan, 1972; Rajan et al., 2020; Burridge et al., 2020; Santos et al., 2009). Além disso, sementes de amendoim tratadas com etileno apresentaram uma produção autocatalítica do regulador gasoso que foi acompanhado por um aumento na taxa de germinação (Whitehead & Nelson 1992). Neste sentido, a disponibilidade de ACC, portanto, seria um fator limitante

durante a fase inicial do processo de germinação das sementes de amendoim (Whitehead & Nelson 1992).

Alguns trabalhos de caracterização de efeitos regulados pelo etileno durante a germinação e estabelecimento das plântulas têm produzido resultados interessantes. Por exemplo, em solo compactado, plântulas de *Arabidopsis* exibiram, um aumento na biossíntese de etileno, que foi essencial para o estabelecimento (Zhong et al., 2014). Em plântulas de algodão, também foi observado um aumento da biossíntese de etileno em função do aumento da profundidade de plantio (Li et al., 2021). No entanto, pouco se conhece sobre os efeitos do etileno na regulação do estabelecimento e produção das plantas de amendoim em resposta à profundidade de plantio. Assim, o presente trabalho objetivou analisar o efeito do etileno no desenvolvimento vegetativo e reprodutivo do amendoim em resposta as diferentes profundidades de plantio.

## **2 Material e métodos**

### **2.1 Material vegetal e condução dos experimentos**

Sementes de amendoim, cultivares IAPAR 25 e Tatu Vermelho, foram transferidas para placas de petri de vidro (150 mm de diâmetro) contendo, ao fundo, duas camadas de papel de filtro Whatman nº 1 e 20 ml de água deionizada. As placas de petri contendo as sementes embebidas foram mantidas no escuro em câmara de crescimento noite/dia (Forma Scientific Inc, Ohio, USA), a 30° C. Após 6 h do período de incubação, as sementes foram colocadas nas profundidades de 0, 2,5, 5, 10 e 15 cm em canos PVC, de 10 cm de diâmetro e 30 cm de comprimento, contendo substrato comercial Tropstrato HT®. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na Universidade Federal de Viçosa – UFV (20° 45'S, 42° 15'W), Viçosa, Minas Gerais, por 20 dias. A irrigação foi feita diariamente, de forma a manter a umidade do substrato próximo à capacidade de campo.

O segundo experimento foi conduzido na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão – Horta Nova da UFV (20°45'47" S, 42°49'13" W), Viçosa, Minas Gerais, no período de outubro de 2021 a março de 2022. As sementes, previamente embebidas em água deionizada foram mantidas no escuro em câmara de crescimento noite/dia (Forma Scientific Inc, Ohio, USA), a 30° C, por 24 h. Em seguida, as sementes foram semeadas nas profundidades de 0, 2,5, 5, 10 e 15 cm em solo classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo Câmbico, textura Franco Argilo-Arenosa (Embrapa 2013). Na ausência de chuva, procedeu-se a irrigação diária por aspersão convencional de forma a manter a umidade do solo próximo à capacidade de campo. No decorrer do trabalho experimental, quando necessário, foi realizado o controle de pragas e doenças, obedecendo às recomendações para a cultura do amendoim.

## **2.2 Quantificação de etileno nas sementes de amendoim**

As sementes de amendoim foram embebidas em água deionizada (controle), em solução de ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano (ACC), à concentração de 10 mM, e em aminoetoxivinilglicina (AVG), à concentração de 50 µM. As placas de petri contendo as sementes embebidas com água deionizada, ACC, ou AVG foram mantidas no escuro em câmara de crescimento por 6 h. Ao final do período de incubação, as sementes foram lavadas em água deionizada e transferidas para frascos Erlenmeyer de 25 ml de capacidade, contendo ao fundo duas camadas de papel de filtro Whatman nº 1 umedecidos com água deionizada. Após 24 h de incubação, o etileno emanado pelas sementes foi quantificado de acordo com a técnica descrita por Saltveit e Yang (1987). As amostras foram injetadas em um cromatógrafo a gás Hewlett-Packard 5890, serie II (USA), equipado com um detector de ionização de chama e uma coluna de aço inoxidável, empacotada com Porapak-N (80-100 mesh). A determinação do etileno foi feita comparando-se as áreas das amostras obtidas no Software Peak-2 Simple com áreas de picos de uma mistura padrão de etileno de concentração conhecida.

Para avaliar se as condições de profundidade de plantio controlam a biossíntese de etileno no amendoim, sementes foram embebidas em água deionizada por 6 h no escuro, a 30° C, em seguida, as sementes foram transferidas para canos PVC (10 cm de diâmetro e 30 cm de comprimento), contendo substrato comercial Tropstrato HT®, às profundidades de 0, 2,5, 5, 10 e 15 cm. Após 72 h de incubação no substrato, as sementes foram lavadas em água deionizada e transferidas para frascos Erlenmeyer de 25 ml de capacidade, contendo ao fundo, duas camadas de papel de filtro Whatman nº 1 umedecidos com água deionizada. Transcorrido o período de 24 h de incubação no escuro em câmara de crescimento, o etileno emanado pelas sementes foi quantificado por cromatografia gasosa.

### **2.3 Avaliação do crescimento vegetativo das plântulas de amendoim**

O número de plântulas estabelecidas e o número de folhas completamente expandidas das plântulas foram quantificados 20 dias após o plantio das sementes nas diferentes profundidades em cano de PVC contendo substrato comercial. A área foliar das plântulas foi mensurada com um medidor de área LI-3100 (Li-Cor, Lincoln, NE, USA) e o comprimento do epicótilo e hipocótilo foram determinados com o auxílio de uma régua. Os órgãos das plântulas foram secos em estufa de circulação forçada, a 70 °C, até atingir peso constante, para a determinação do peso seco das raízes, caules e folhas. A partir da massa seca dos órgãos foi calculada a biomassa total e a razão parte aérea/raiz.

O comprimento e diâmetro da raiz principal e lateral, bem como volume do sistema radicular e o número de raízes laterais foram determinados com o auxílio do software de processamento de imagem WhinRHIZO Basic, Reg, Pro & Arabidopsis 2013 (Reagent Instrument Canadá INC.), como descrito por Zhu et al., (2005).

## 2.4 Avaliação do desenvolvimento reprodutivo das plantas de amendoim

Ao final do ciclo de cultivo em campo (150 dias após o plantio), as plantas foram coletadas e separadas em caules, folhas e frutos. O material vegetal foi submetido à secagem em estufa a 70°C com circulação forçada de ar, até atingir peso constante. O número de vagens por planta, o número de grãos por planta e por vagens, peso de 1000 grãos, comprimento e diâmetro de vagens foram determinados. Também foi mensurado a produtividade e a biomassa seca total. O índice de colheita foi calculado a partir da razão entre o rendimento de sementes e a biomassa seca do caule e folhas (Mekdad et al., 2021):

$$\text{Índice de colheita de sementes (\%)} = \frac{\text{Rendimento de sementes (kg)}}{\text{Biomassa caule e folha (kg)}} \times 100$$

## 2.5 Trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*

Os parâmetros de trocas gasosas e fluorescência foram avaliados em folhas completamente expandidas durante os estágios vegetativo e reprodutivo das plantas de amendoim cultivadas em condição de campo. A taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (*A*), a condutância estomática (*g<sub>s</sub>*), a concentração subestomática de CO<sub>2</sub> (*C<sub>i</sub>*) e a taxa de transpiração (*E*) foram mensuradas em folhas, entre 9 h e 11 h, utilizando um analisador de gases a infravermelho (Li 6400XT, Li-Cor, Lincoln, NE, USA) equipado com uma câmara de fluorescência integrada (LI-6400-40, LI-COR, Lincoln, NE, USA), sob radiação fotossinteticamente ativa de 1000 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, com 10 % de luz azul, fornecido por uma fonte de luz LED azul/vermelha, déficit de pressão de vapor de 1.0 kPa, temperatura do ar de 25 °C e umidade relativa 50-60%. A concentração de CO<sub>2</sub> de referência utilizada foi de 410 μmol CO<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup> de ar, usando um injetor de gás acoplado a um cilindro de CO<sub>2</sub> comprimido. A respiração (*R<sub>d</sub>*) foi determinada em folhas adaptadas ao escuro por 2 h como descrito por Niinements et al., (2006). A eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (FSII) foi calculada como

$F_v/F_m$ , coeficiente de extinção fotoquímico ( $qP$ ) e o coeficiente de extinção não-fotoquímico ( $NPQ$ ) foi calculado como previamente descrito Martins et al., (2014).

## **2.6 Análises estatísticas**

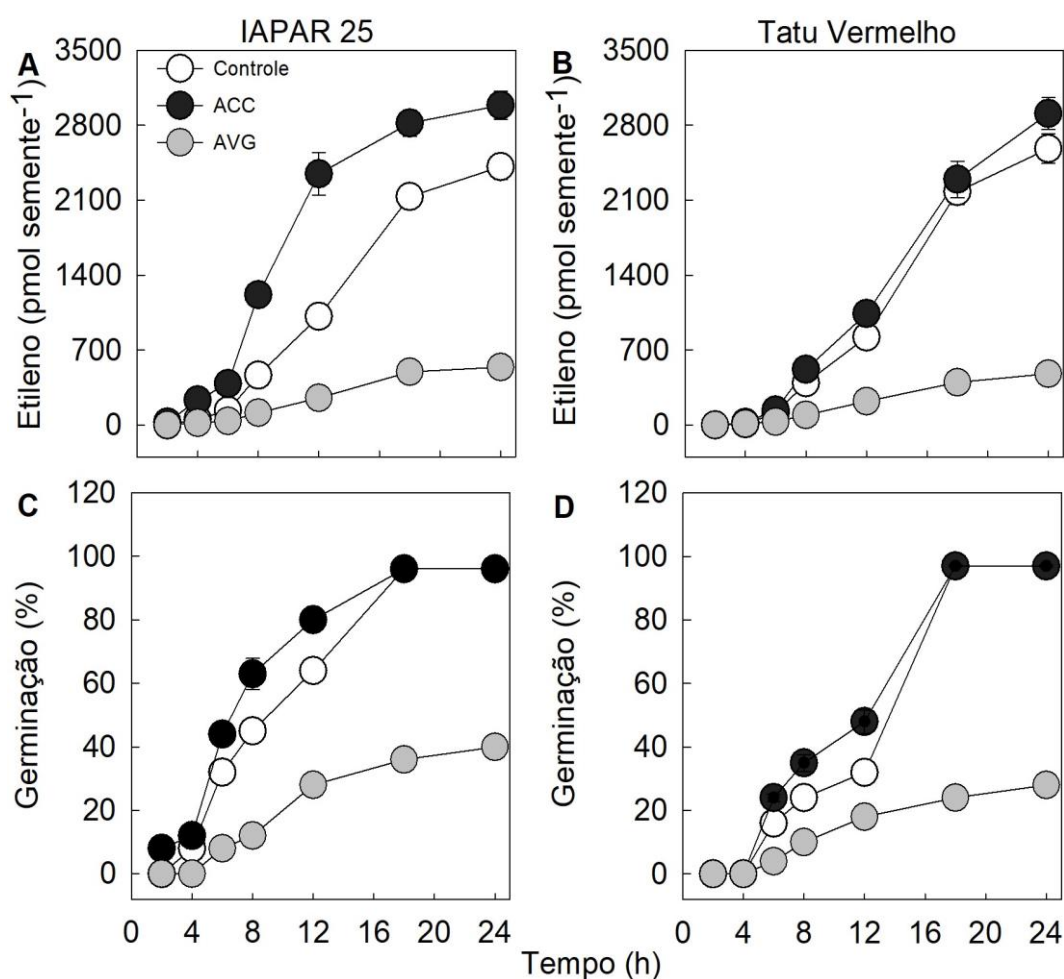
O delineamento experimental utilizado no experimento de crescimento foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x5, duas cultivares (IAPAR 25 e Tatu Vermelho) e cinco níveis de profundidades de plantio (0, 2,5, 5, 10, e 15 cm). A unidade experimental foi composta por 2 plântulas com seis repetições por tratamento. Para quantificação do etileno, a unidade experimental foi composta por 6 sementes por frascos Erlenmeyer com cinco repetições. Para quantificar o etileno nas condições de profundidade de plantio, a unidade experimental foi composta por 3 sementes por frascos Erlenmeyer com seis repetições. O delineamento experimental do experimento de desenvolvimento reprodutivo de planta foi em blocos ao acaso, em esquema fatorial 2x5, duas cultivares (IAPAR 25 e Tatu Vermelho) e cinco níveis de profundidades de plantio (0, 2,5, 5, 10, e 15 cm). As unidades experimentais foram compostas por 2 plantas por tratamento, com três repetições. A análise de variância (ANOVA,  $P < 0,05$ ) foi realizada para determinar os efeitos dos tratamentos. Quando a ANOVA mostrou efeitos significativos, o teste de Tukey ( $P < 0,05$ ) foi empregado para determinar as diferenças entre os tratamentos. As diferenças de médias entre as cultivares foram avaliadas pelo Teste  $t$  ( $P < 0,05$ ). Todas as comparações de médias foram realizadas utilizando o software Sisvar (Ferreira 2020).

## **3 Resultados**

### *Germinação e produção de etileno*

Para testar-se o envolvimento do etileno na germinação de sementes de amendoim, a germinação e a produção de etileno foram quantificadas em sementes embebidas em solução

de AVG e ACC. A produção de etileno de sementes de amendoim das cultivares IAPAR 25 e Tatu Vermelho foi inibida fortemente por solução de AVG, inibidor da atividade da sintase do ACC, no intervalo avaliado (2-24 h) (Figura 1A-B). Sob a ação da AVG a biossíntese de etileno foi inibida em 82% e 83% para a cultivar IAPAR 25 e Tatu Vermelho, respectivamente, em relação ao controle, ao final de 24 h de embebição. Em adição, os resultados da Figura 1C-D indicaram que a inibição da produção de etileno promovida pela solução de AVG coincidiu com a redução da germinação das sementes das cultivares IAPAR 25 e Tatu Vermelho. Contrariamente ao AVG, a solução de ACC aumentou a biossíntese de etileno na cultivar IAPAR 25, mas não nas sementes da cultivar Tatu Vermelho comparado com o controle no intervalo avaliado 2-24 h (Figura 1A-B). A velocidade de germinação das sementes das cultivares IAPAR 25 e Tatu Vermelho foi aumentada por solução de ACC, no intervalo de 6-16 h de incubação (Figura 1C-D). Entretanto, após 18 h de incubação das sementes em solução de ACC, não mais observou-se incremento significativo na velocidade de germinação das sementes de ambas cultivares de amendoim. Juntos os experimentos com AVG e ACC sugerem que o etileno está envolvido na germinação de sementes de amendoim das cultivares IAPAR 25 e Tatu Vermelho.



**Figura 1.** Produção de etileno e germinação de sementes de amendoim, cultivares IAPAR 25 e Tatu Vermelho. **A** Produção de etileno por sementes de amendoim cv. IAPAR 25. **B** Produção de etileno por sementes de amendoim cv. Tatu Vermelho. **C** Germinação de sementes de amendoim cv. IAPAR 25. **D** Germinação de sementes de amendoim cv. Tatu Vermelho. Médias de cinco repetições  $\pm$  erro da média.

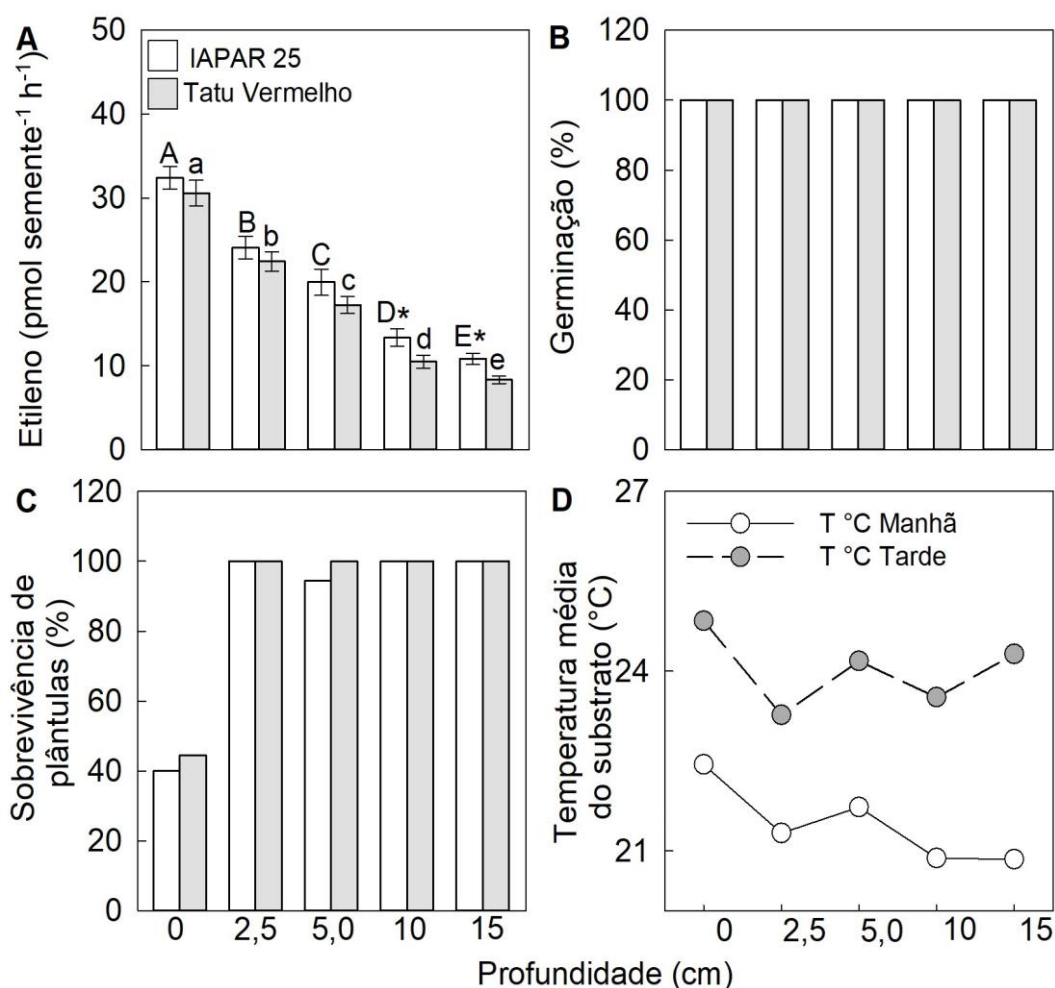
#### *Efeitos das diferentes profundidades de plantio no crescimento vegetativo das plântulas de amendoim*

Para examinar o grau de envolvimento do etileno na emergência das plântulas de amendoim, sementes das cultivares IAPAR 25 e Tatu Vermelho foram semeadas nas profundidades de 0, 2,5, 5,0, 10 e 15 cm. A produção de etileno das sementes das cultivares IAPAR 25 e Tatu Vermelho foi progressivamente inibida com o aumento da profundidade de plantio (Figura 2A). A profundidade de 15 cm reduziu a biossíntese de etileno das sementes em 67% na cv. IAPAR 25 e em 73% na cultivar Tatu Vermelho em comparação com a

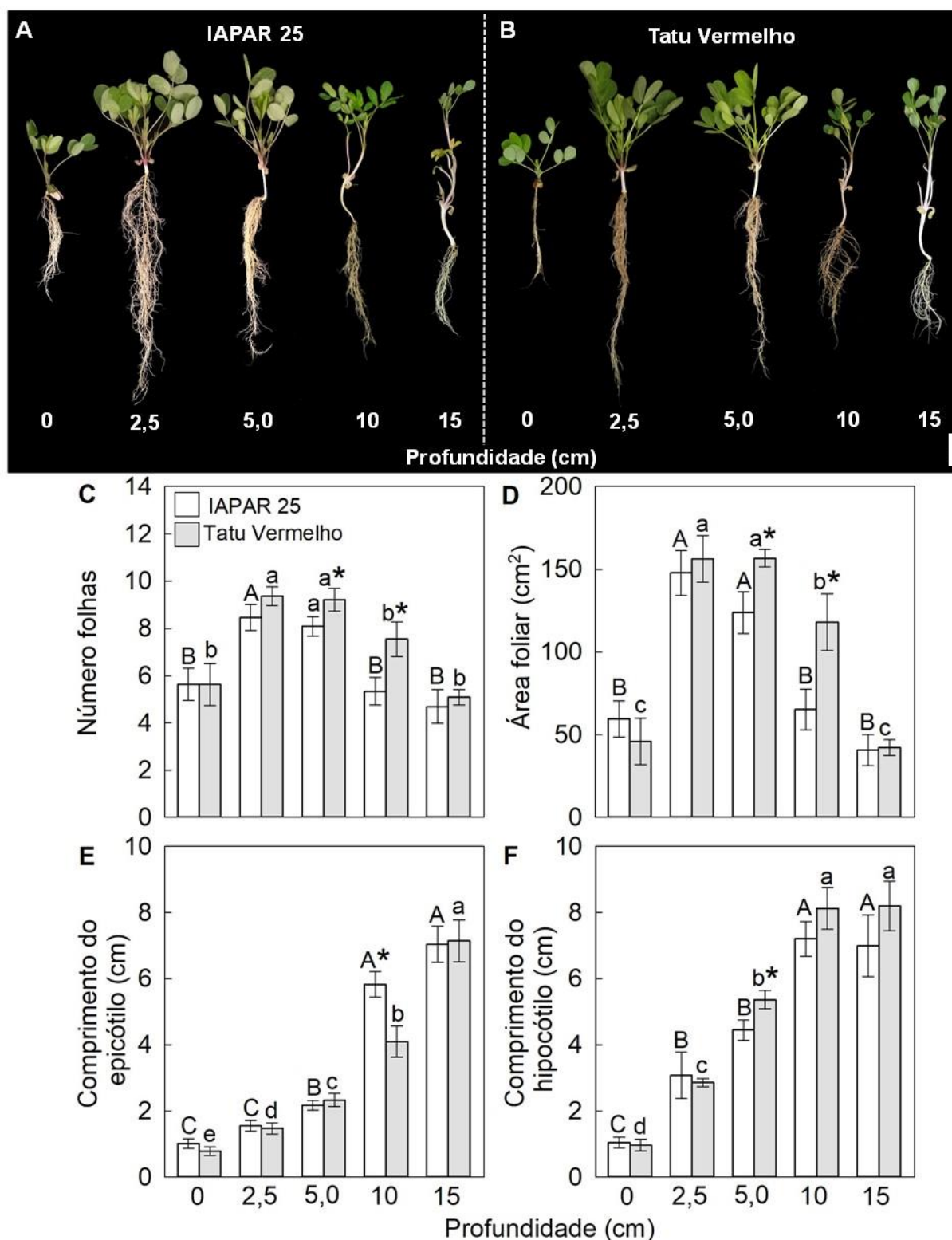
profundidade de 0 cm (Figura 2A). A quantidade de etileno emanado pelas sementes das cultivares de amendoim também diferiu. As sementes de amendoim mostraram um aumento na biossíntese de etileno nas profundidades de 10 cm e 15 cm de 21% e 23% para a cultivar IAPAR 25 em comparação com a cultivar Tatu Vermelho (Figura 2A). Por outro lado, a germinação das sementes de ambas as cultivares não foi afetada pelas profundidades de plantio (Figura 2B). Interessantemente, os resultados das Figura 2C mostram que a sobrevivência das plântulas de ambas cultivares foi reduzida em aproximadamente 60% na profundidade de 0 cm, quando comparado com as demais profundidades de plantio. Ademais, a temperatura média do substrato apresentou variação entre as profundidades de plantio e entre os períodos do dia (Figura 2D). A temperatura média do período da manhã foi de 19 °C e para o período da tarde foi de 23 °C. No período da manhã, a amplitude térmica, entre as profundidades de 0 e 15 cm, foi de 1,6 °C; enquanto que no período da tarde, a amplitude térmica foi de 1,8 °C (Figura 2D).

Diante dos resultados anteriores, avaliou-se o efeito das profundidades de plantio no crescimento das plântulas de amendoim, cultivar IAPAR 25 e cultivar Tatu Vermelho (Figura 3A-B). No geral, os resultados mostraram que as profundidades de plantio 0, 10 e 15 cm afetaram negativamente o número de folhas e área foliar, quando comparado com as plântulas desenvolvidas às profundidades de 2,5 e 5,0 cm (Figura 3C-D). Ademais, em comparação com as plântulas cultivadas nas menores profundidades (0, 2,5 e 5,0 cm), as plântulas de ambas cultivares que desenvolveram nas profundidades maiores (10 e 15 cm) exibiram uma morfologia caracterizada por epicótilos e hipocótilos mais alongados (Figura 3E-F). Uma redução de 45% e 46% no número de folhas foi observada para plântulas de amendoim cultivar IAPAR 25 e Tatu Vermelho, respectivamente, quando desenvolvidas na profundidade de 15 cm em comparação com à profundidade de 2,5 cm (Figura 3C). As plântulas de amendoim também mostraram uma redução no número de folhas de 33% na cultivar IAPAR 25 e de 40% na cultivar Tatu Vermelho, quando desenvolvidas na profundidade de 0 cm em comparação

com à profundidade de 2,5 cm (Figura 3C). Além disso, o número de folhas da cultivar IAPAR 25 mostrou-se reduzido em 12% e 29% nas profundidades de 5,0 cm e 10 cm, respectivamente, quando comparada com a cultivar Tatu Vermelho (Figura 3C). A área foliar das plântulas foi reduzido em 72% na cultivar IAPAR 25 e em 73% na cultivar Tatu Vermelho na profundidade 15 cm em relação à profundidade de 2,5 cm (Figura 3D). A profundidade de 2,5 cm promoveu um aumento área foliar das plântulas de 60% na cultivar IAPAR 25 e de 71% na cultivar Tatu Vermelho, quando comparada a profundidade de 0 cm (Figura 3D). Ademais, a área foliar mostrou-se aumentada na cultivar Tatu Vermelho em 21% e 45% nas profundidades de 5,0 cm e 10 cm, respectivamente, quando comparada com a cultivar IAPAR 25 (Figura 3D). Por outro lado, uma redução de 86% e 89% no alongamento do epicótilo foi observada para plântulas de amendoim cultivar IAPAR 25 e Tatu Vermelho, respectivamente, quando desenvolvidas na profundidade de 0 cm em comparação com à profundidade de 15 cm (Figura 3E). Além disso, observou-se que na profundidade de 10 cm o alongamento do epicótilo aumentou em 40% para a cultivar IAPAR 25 em comparação com a cultivar Tatu Vermelho (Figura 3E). Plântulas desenvolvidas na profundidade de 15 cm exibiram um aumento no alongamento do hipocótilo de 85% na cultivar IAPAR 25 e 88% a cultivar Tatu Vermelho, em relação à profundidade 0 cm (Figura 3F). Por outro lado, a profundidade de 5,0 cm promoveu um aumento no alongamento do hipocótilo das plântulas de amendoim de 17% na cultivar Tatu Vermelho em comparação com a cultivar IAPAR 25 (Figura 3F). Juntos, os resultados acima fornecem evidências de que o etileno regula a germinação de sementes de amendoim e que a capacidade de sintetizar etileno constitui um requisito importante no desenvolvimento das plântulas de amendoim em resposta a profundidade de plantio.



**Figura 2.** Efeitos das profundidades de plantio na produção de etileno, germinação de sementes e sobrevivência de plântulas de amendoim, cultivares IAPAR 25 e Tatu Vermelho, e na temperatura do substrato. **A** Produção de etileno de sementes de amendoim cultivar IAPAR 25 e Tatu Vermelho. **B** Germinação de sementes de amendoim cultivar IAPAR 25 e Tatu Vermelho. **C** Taxa de sobrevivência de plântulas de amendoim cv. IAPAR 25 e cv. Tatu Vermelho. **D** Temperatura média do substrato. Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre as profundidades de plantio na cultivar IAPAR 25 pelo Teste Tukey ( $P < 0,05$ ). Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre as profundidades de plantio na cultivar Tatu Vermelho pelo Teste Tukey ( $P < 0,05$ ). Os asteriscos indicam diferenças significativas entre as cultivares dentro das profundidades de plantio pelo Teste  $t$  ( $P < 0,05$ ). Médias de doze repetições  $\pm$  erro da média.

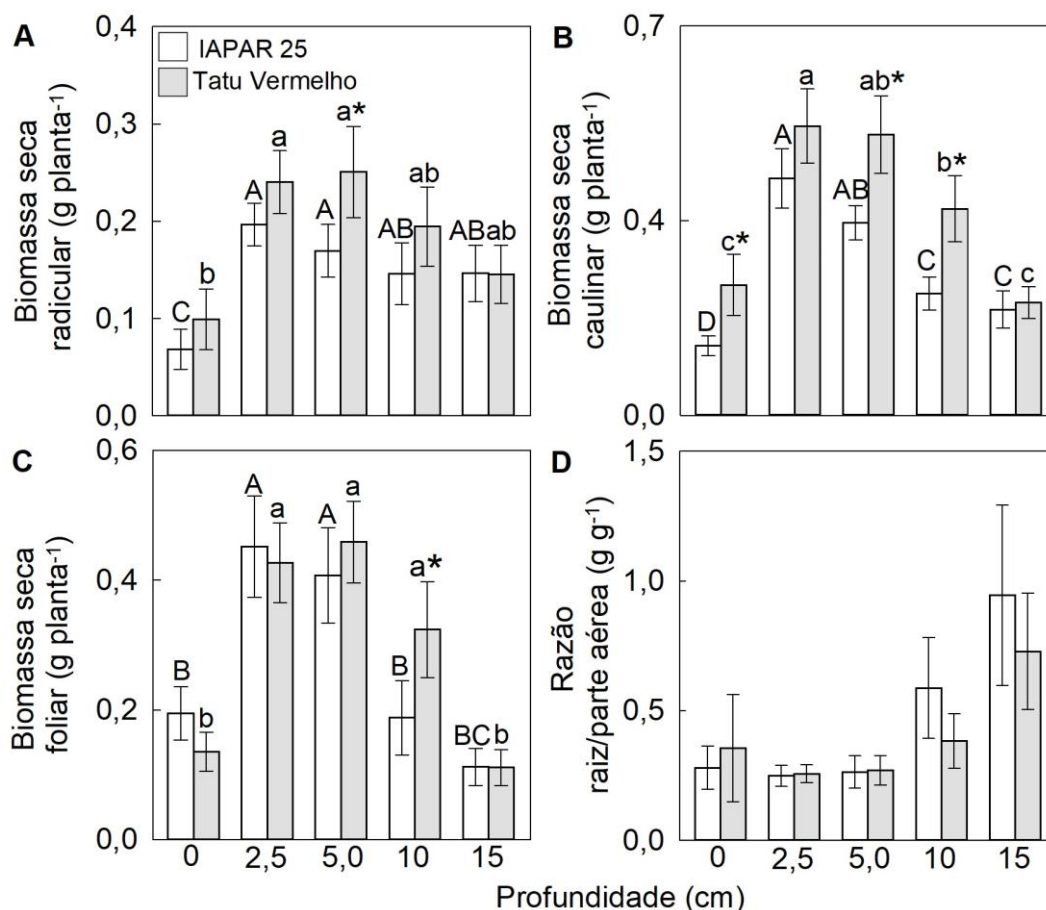


**Figura 3.** Efeitos das profundidades de plantio no crescimento de plântulas de amendoim, cultivares IAPAR 25 e Tatu Vermelho. **A** Plântulas de amendoim cultivar IAPAR 25. **B** Plântulas de amendoim cultivar Tatu Vermelho. **C** Número de folhas. **D** Área foliar. **E** Comprimento do epicótilo. **F** Comprimento do hipocótilo. Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre as profundidades de plantio na cultivar IAPAR 25 pelo Teste Tukey ( $P < 0,05$ ). Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre as profundidades de plantio na cultivar Tatu Vermelho pelo Teste Tukey ( $P < 0,05$ ). Os asteriscos

indicam diferenças significativas entre as cultivares dentro das profundidades de plantio pelo Teste *t* ( $P < 0,05$ ). Médias de doze repetições  $\pm$  erro da média. Barra = 2,0 cm.

A profundidade de plantio afetou a biomassa radicular, caulinar e foliar das plântulas (Figura 4A-B-C). De forma geral, as plântulas de ambas cultivares que cresceram nas profundidades de 0 cm, 10 cm e 15 cm exibiram uma menor biomassa radicular, caulinar e foliar em comparação com as plântulas cultivadas nas profundidades de 2,5 cm e 5,0 cm (Figura 4A-B-C). A biomassa radicular aumentou em 65% para a cultivar IAPAR 25 e em 59% para a cultivar Tatu Vermelho na profundidade de 2,5 cm, em comparação com à profundidade de 0 cm (Figura 4A). Além disso, a profundidade de 5,0 cm promoveu um aumento na biomassa radicular de 32% na cultivar Tatu Vermelho em relação a cultivar IAPAR 25 (Figura 4A). Por outro lado, uma redução de 55% e 61% na biomassa caulinar foi observada para plântulas de amendoim cultivar IAPAR 25 e Tatu Vermelho, respectivamente, quando desenvolvidas na profundidade de 0 cm em comparação com à profundidade de 2,5 cm (Figura 4B). Além disso, as plântulas desenvolvidas na profundidade de 15 cm exibiram uma redução de 55% e 61% na biomassa caulinar na cultivar IAPAR 25 e Tatu Vermelho, respectivamente, em comparação com à profundidade de 2,5 cm (Figura 4B). Em relação às profundidades de 5,0 cm e 10 cm, a biomassa caulinar foi aumentada em 31% e 41%, respectivamente, na cultivar Tatu Vermelho quando comparada com a cultivar IAPAR 25 (Figura 4B). Ademais, verificou-se que as plântulas desenvolvidas na profundidade de 15 cm apresentaram uma redução na biomassa foliar de 72% para a cultivar IAPAR 25 e de 76% para a cultivar Tatu Vermelho, em relação a profundidade de 5,0 cm (Figura 4C). Uma redução de 57% e 68% na biomassa foliar foi observado para plântulas de amendoim cultivar IAPAR 25 e Tatu Vermelho, respectivamente, quando desenvolvidas na profundidade de 0 cm em comparação com a profundidade de 2,5 cm (Figura 4C). Os resultados também mostraram que na profundidade de 10 cm a biomassa foliar para a cultivar Tatu Vermelho foi 42% maior em comparação com a cultivar IAPAR 25 (Figura

4C). Por outro lado, a relação raiz/parte aérea não foi afetada pelas profundidades de plantio para ambas cultivares (Figura 4D).

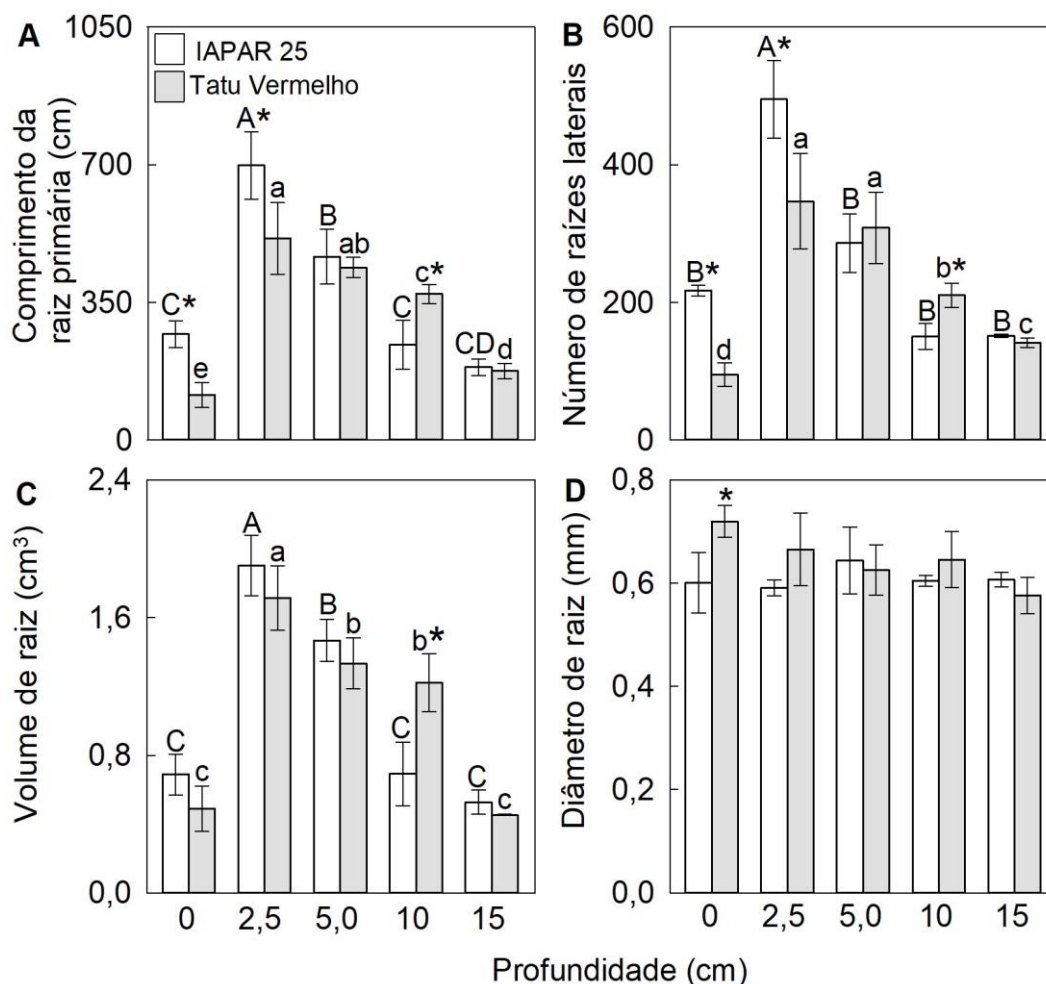


**Figura 4.** Efeitos das profundidades de plantio na biomassa seca plântulas de amendoim cultivar IAPAR 25 e Tatu vermelho. **A** Biomassa seca radicular. **B** Biomassa seca caulinar. **C** Biomassa seca foliar. **D** Razão parte aérea/raiz. Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre as profundidades de plantio na cultivar IAPAR 25 pelo Teste Tukey ( $P < 0,05$ ). Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre as profundidades de plantio na cultivar Tatu Vermelho pelo Teste Tukey ( $P < 0,05$ ). Os asteriscos indicam diferenças significativas entre as cultivares dentro das profundidades de plantio pelo Teste  $t$  ( $P < 0,05$ ). Médias de doze repetições  $\pm$  erro da média.

Analisou-se também o efeito das profundidades de plantio no desenvolvimento das raízes das plântulas do amendoim. A profundidade que promoveu o maior crescimento da raiz na cultivar IAPAR 25 foi 2,5 cm, enquanto para Tatu Vermelho foram as profundidades de 2,5 e 5 cm (Figura 5A). O alongamento da raiz primária mostrou-se reduzido em 61% para a cultivar IAPAR 25 e em 77% para a cultivar Tatu Vermelho na profundidade de 0 cm quando

comparado com à profundidade de 2,5 cm (Figura 5A). Além disso, plântulas desenvolvidas na profundidade de 15 cm mostraram uma redução de 73% e 65% no alongamento da raiz primária na cultivar IAPAR 25 e Tatu Vermelho, respectivamente, quando comparada com à profundidade de 2,5 cm (Figura 5A). O alongamento da raiz primária na cultivar IAPAR 25 mostrou-se aumentado em 57% e 27% nas profundidades de 0 cm e 2,5 cm, respectivamente, quando comparada com a cultivar Tatu Vermelho (Figura 5A). Por outro lado, a profundidade de 10 cm promoveu um aumento no alongamento da raiz primária de 35% para a cultivar Tatu Vermelho em relação a cultivar IAPAR 25 (Figura 5A). A profundidade de 2,5 cm promoveu um aumento no número de raízes laterais das plântulas de 56% para a cultivar IAPAR 25 e em 72% para a cultivar Tatu Vermelho, respectivamente, em comparação com à profundidade de 0 cm (Figura 5B). Observou-se, também, que na profundidade de 2,5 cm o número de raízes laterais aumentou em 69% para a cultivar IAPAR 25 e em 54% para a cultivar Tatu Vermelho em comparação com a profundidade de 15 cm (Figura 5B). O número de raízes laterais na cultivar IAPAR 25 mostrou-se aumentado em 56% e 30% nas profundidades de 0 cm e 2,5 cm, respectivamente, quando comparada com a cultivar Tatu Vermelho (Figura 5B). Por outro lado, na profundidade de 10 cm, o número de raízes laterais foi aumentado em 35% na cultivar Tatu Vermelho em relação a cultivar IAPAR 25 (Figura 5B). Para o volume de raiz verificou-se uma redução de 64% para a cultivar IAPAR 25 e 71% para a cultivar Tatu Vermelho na profundidade de 0 cm em relação à profundidade de 2,5 cm (Figura 5C). Além disso, observou-se uma redução de 72% e 73% no volume de raiz para plântulas de amendoim cultivar IAPAR 25 e Tatu Vermelho, respectivamente, quando desenvolvidas na profundidade de 15 cm em comparação com à profundidade de 2,5 cm (Figura 5C). Em relação à profundidade de 10 cm, o volume de raiz foi aumentado em 43% na cultivar Tatu Vermelho em comparação com a cultivar IAPAR 25 (Figura 5C). Ademais, observou-se que na profundidade de 0 cm o diâmetro

da raiz aumentou em 16% para a cultivar Tatu Vermelho em comparação com a cultivar IAPAR 25 (Figura 5D).

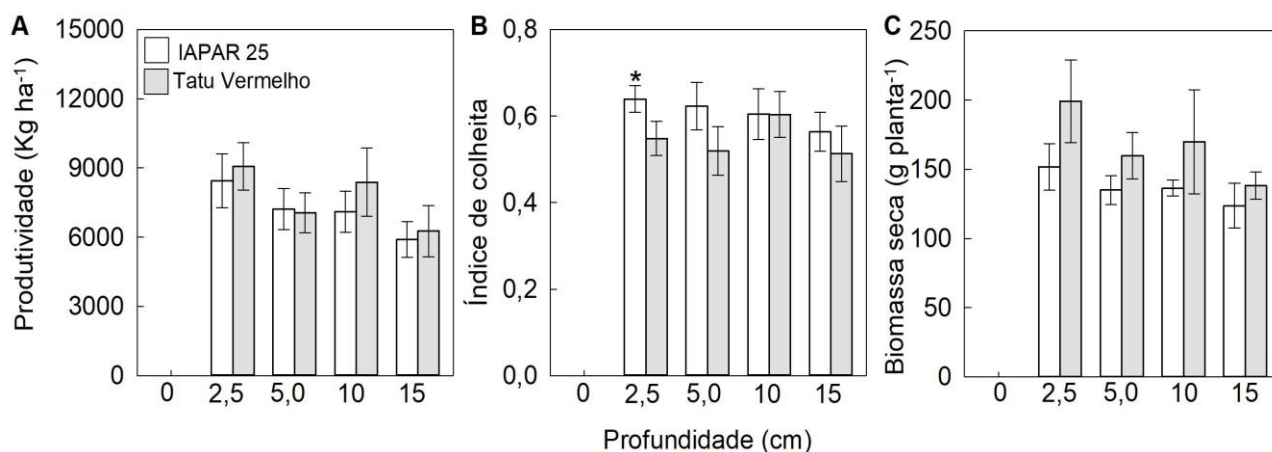


**Figura 5.** Efeitos das profundidades de plantio no crescimento do sistema radicular de plântulas de amendoim, cultivares IAPAR 25 e Tatu Vermelho. **A** Comprimento da raiz primária. **B** Número de raízes laterais. **C** Volume de raiz. **D** Diâmetro de raiz. Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre as profundidades de plantio na cultivar IAPAR 25 pelo Teste Tukey ( $P < 0,05$ ). Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre as profundidades de plantio na cultivar Tatu Vermelho pelo Teste Tukey ( $P < 0,05$ ). Os asteriscos indicam diferenças significativas entre as cultivares dentro das profundidades de plantio pelo Teste  $t$  ( $P < 0,05$ ). Médias de doze repetições  $\pm$  erro da média.

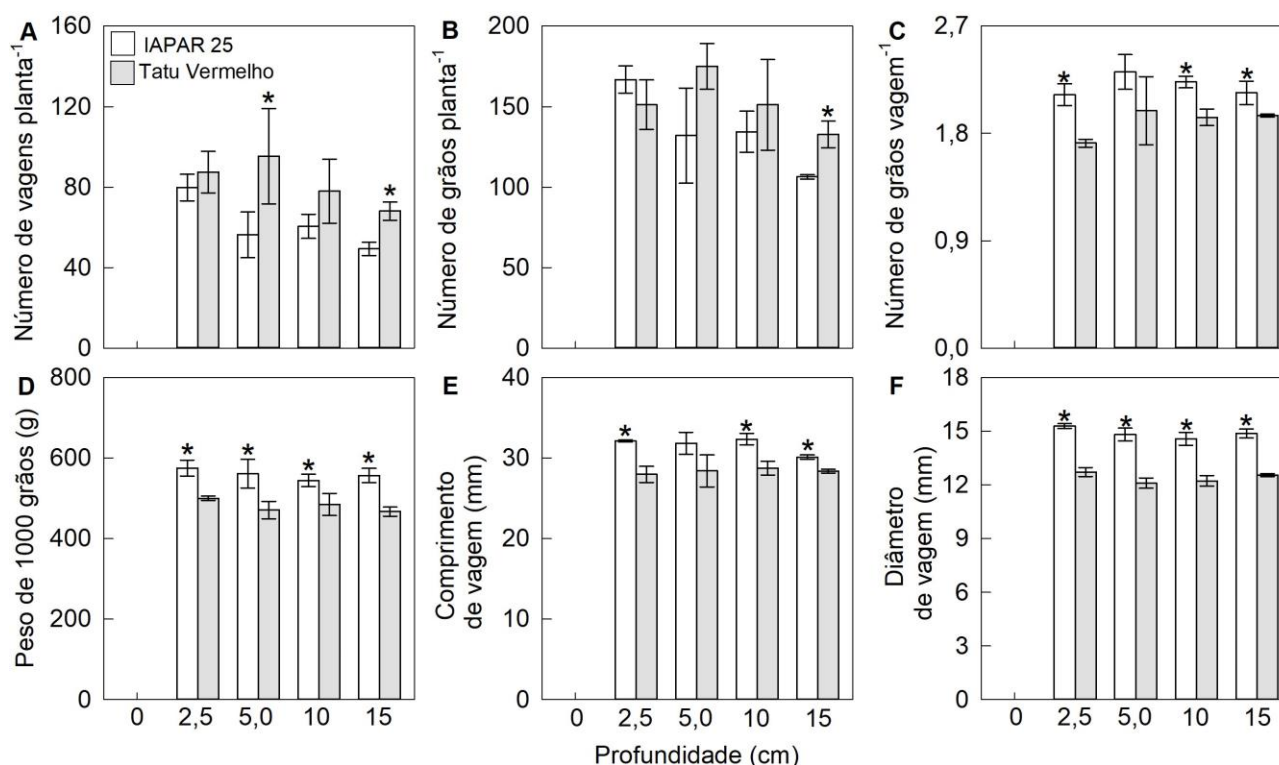
*Efeitos das diferentes profundidades de plantio no crescimento reprodutivo das plantas de amendoim*

As profundidades de plantio não levaram a mudanças significativas na produtividade das plantas de amendoim de ambas cultivares (Figura 6A). Além disso, observou-se que para a

profundidade de 0 cm não se obteve plantas, ao final do ciclo de cultivo, para a avaliação das características de produção (Figuras 6, 7). Por outro lado, em relação à profundidade de 2,5 cm, o índice de colheita foi aumentado em 22% na cultivar IAPAR 25 quando comparada com a cultivar Tatu Vermelho (Figura 6B). A biomassa seca total das plantas de amendoim não foi afetada pelas profundidades de plantio para ambas cultivares (Figura 6C). Plantas de amendoim cultivar Tatu Vermelho exibiram um aumento de 41% e 28% no número de vagens por planta nas profundidades de 5,0 cm e 15 cm, respectivamente, em comparação com a cultivar IAPAR 25 (Figura 7A). Além disso, observou-se que na profundidade de 15 cm o número de grãos por planta aumentou em 20% para a cultivar Tatu Vermelho em comparação com a cultivar IAPAR 25 (Figura 7B). O número de grãos por vagens, peso de 1000 grãos, comprimento e diâmetro de vagem mostraram-se maior na cultivar IAPAR 25 (Figura 7C-F). Neste contexto, observou-se que nas profundidades de 2,5 cm, 10 cm e 15 cm o número de grãos por vagem aumentou em 19%, 13% e 9%, respectivamente, para a cultivar IAPAR 25 em comparação com a cultivar Tatu Vermelho (Figura 7C). Do mesmo modo, nas profundidades de 2,5 cm, 5,0 cm, 10 cm e 15 cm o peso de 1000 grãos aumentou em 13%, 16%, 11% e 16%, respectivamente, para a cultivar IAPAR 25 em comparação com a cultivar Tatu Vermelho (Figura 7D). Além disso, as plantas de amendoim cultivar IAPAR 25 exibiram um aumento de 13%, 11% e 6% no comprimento de vagem nas profundidades de 2,5 cm, 10 cm e 15 cm, respectivamente, em comparação com a cultivar Tatu Vermelho (Figura 7E). Na cultivar IAPAR 25 foi observado um aumento de 17%, 18%, 16% e 16% no diâmetro de vagem nas profundidades de 2,5 cm, 5,0 cm, 10 cm e 15 cm, respectivamente, em relação a cultivar Tatu Vermelho (Figura 7F).



**Figura 6.** Efeitos das profundidades de plantio na produção de plantas de amendoim, cultivares IAPAR 25 e Tatu Vermelho. **A** Produtividade. **B** Índice de colheita. **C** Biomassa seca total. Os asteriscos indicam diferenças significativas entre as cultivares dentro das profundidades de plantio pelo Teste *t* ( $P < 0,05$ ). Médias de três repetições  $\pm$  erro da média.

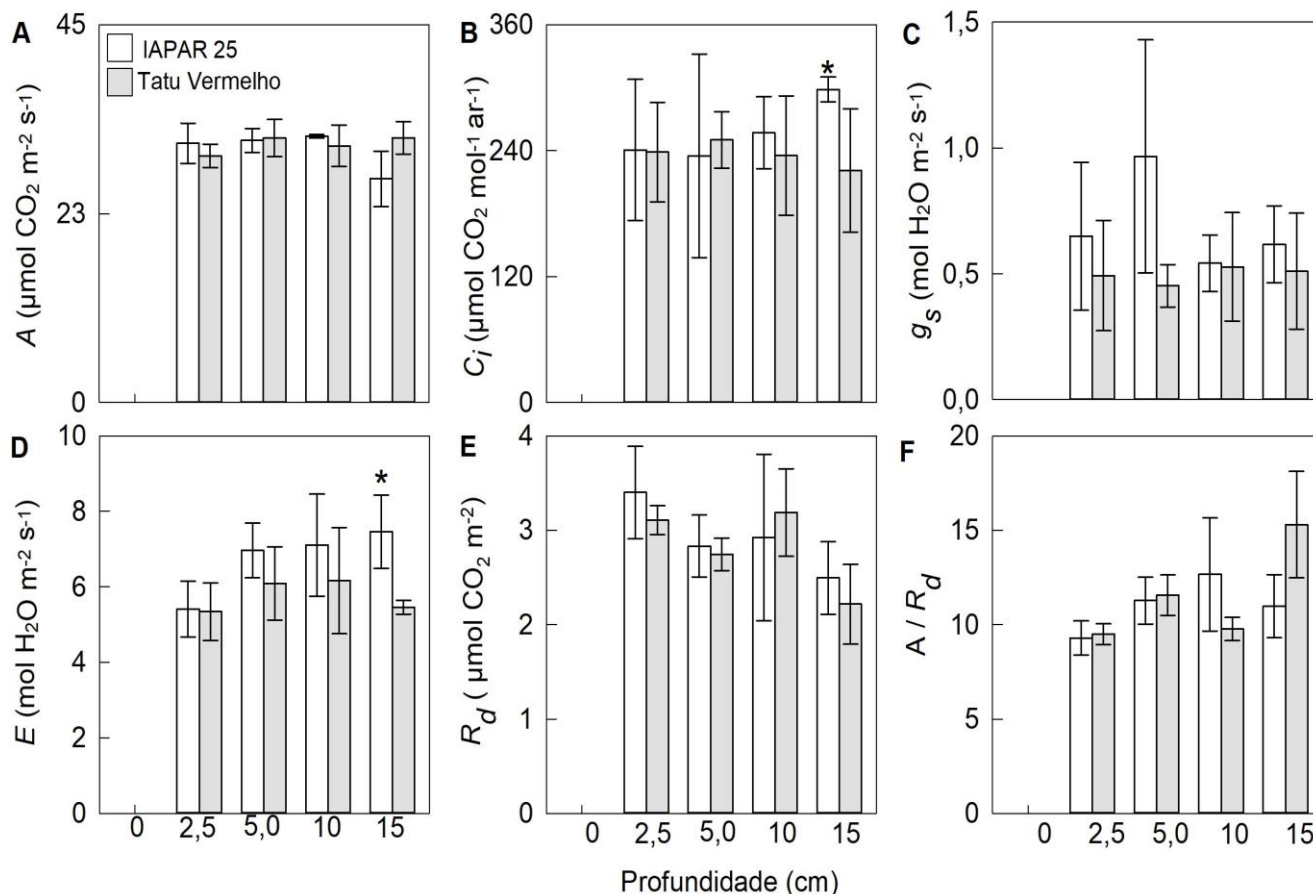


**Figura 7.** Efeitos das profundidades de plantio nas características produtivas de plantas de amendoim, cultivares IAPAR 25 e Tatu Vermelho. **A** Número de vagens por planta. **B** Número de grãos por planta. **C** Número de grãos por vagens. **D** Peso de 1000 grãos. **E** Comprimento de vagem. **F** Diâmetro de vagem. Os asteriscos indicam diferenças significativas entre as cultivares dentro das profundidades de plantio pelo Teste *t* ( $P < 0,05$ ). Médias de três repetições  $\pm$  erro da média.

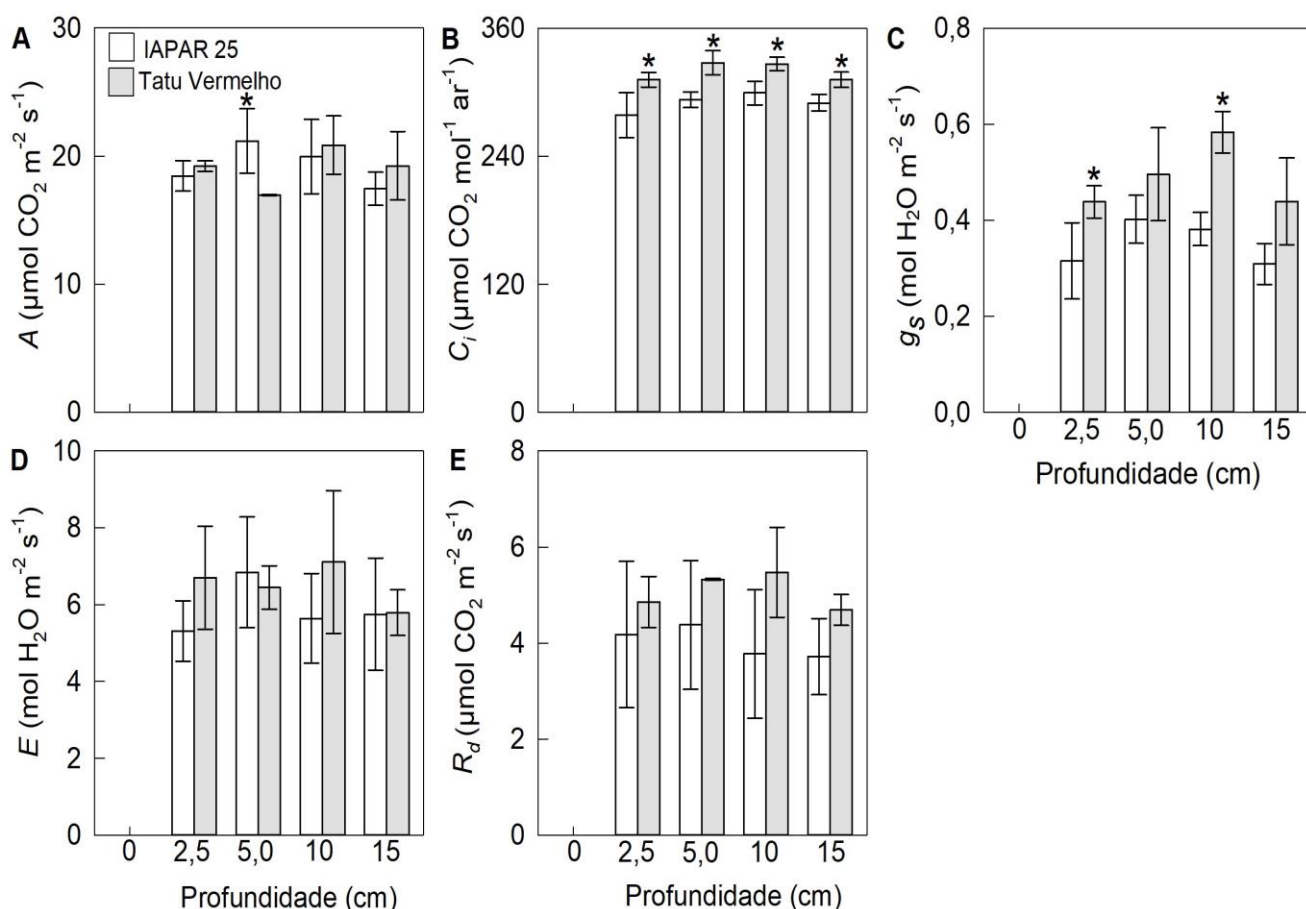
*Efeitos das diferentes profundidades de plantio nas trocas gasosas e fluorescência da clorofila*

As trocas gasosas foram avaliadas nas fases do desenvolvimento vegetativo e reprodutivo das plantas de amendoim (Figuras 8, 9). A taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> ( $A$ ), na fase vegetativa, não foi afetada pelas profundidades de plantio para ambas cultivares (Figura 8A). Por outro lado, observou-se que na profundidade de 15 cm concentração subestomática de CO<sub>2</sub> ( $C_i$ ) aumentou em 26% para a cultivar IAPAR 25 em comparação com a cultivar Tatu Vermelho (Figura 8B). Entretanto, a condutância estomática ( $g_s$ ) não foi afetada pela profundidade de plantio para ambas cultivares (Figura 8C). A taxa de transpiração ( $E$ ) na cultivar IAPAR 25 mostrou-se aumentada em 27% na profundidade de 15 cm, quando comparada com a cultivar Tatu Vermelho (Figura 8D). Ademais, a respiração no escuro ( $R_d$ ) e a razão taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> e respiração no escuro ( $A/R_d$ ) não foram afetadas pelas profundidades de plantio para ambas cultivares (Figura 8E-F). A taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> ( $A$ ), na fase reprodutiva, mostrou-se aumentada em 17% para a cultivar IAPAR 25 na profundidade de 5,0 cm em comparação com a cultivar Tatu Vermelho (Figura 9A). Em geral, na fase reprodutiva, a concentração subestomática de CO<sub>2</sub> ( $C_i$ ) e a condutância estomática ( $g_s$ ) mostraram-se maiores na cultivar Tatu Vermelho (Figura 9B-C). É interessante notar que a concentração subestomática de CO<sub>2</sub> ( $C_i$ ) mostrou-se aumentada em todas as profundidades na cultivar Tatu Vermelho (Figura 9B). Neste contexto, observou-se que nas profundidades de 2,5 cm, 5,0 cm, 10 cm e 15 cm a concentração subestomática de CO<sub>2</sub> ( $C_i$ ) aumentou em 11%, 11%, 8% e 7%, respectivamente, para a cultivar Tatu Vermelho em comparação com a cultivar IAPAR 25 (Figura 9B). As plantas de amendoim cultivar Tatu Vermelho exibiram um aumento de 28% e 35% na condutância estomática ( $g_s$ ) nas profundidades de 2,5 cm e 10 cm, respectivamente, em comparação com a cultivar IAPAR 25 (Figura 9C). Por outro lado, a taxa

de transpiração ( $E$ ) e a respiração no escuro ( $R_d$ ) não foram afetadas pelas profundidades de plantio para ambas cultivares (Figura 9D-E).



**Figura 8.** Efeitos das profundidades de plantio nas trocas gasosas de plantas de amendoim, cultivares IAPAR 25 e Tatu Vermelho, durante o desenvolvimento vegetativo. **A** Taxa líquida de assimilação de  $\text{CO}_2$  ( $A$ ). **B** Concentração subestomática de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ). **C** Condutância estomática ( $g_s$ ). **D** Taxa de transpiração ( $E$ ). **E** Taxa de respiração no escuro ( $R_d$ ). **F** Razão da taxa de assimilação de  $\text{CO}_2$  e respiração no escuro ( $A/R_d$ ). Os asteriscos indicam diferenças significativas entre as cultivares dentro das profundidades de plantio pelo Teste  $t$  ( $P < 0,05$ ). Médias de três repetições  $\pm$  erro da média.

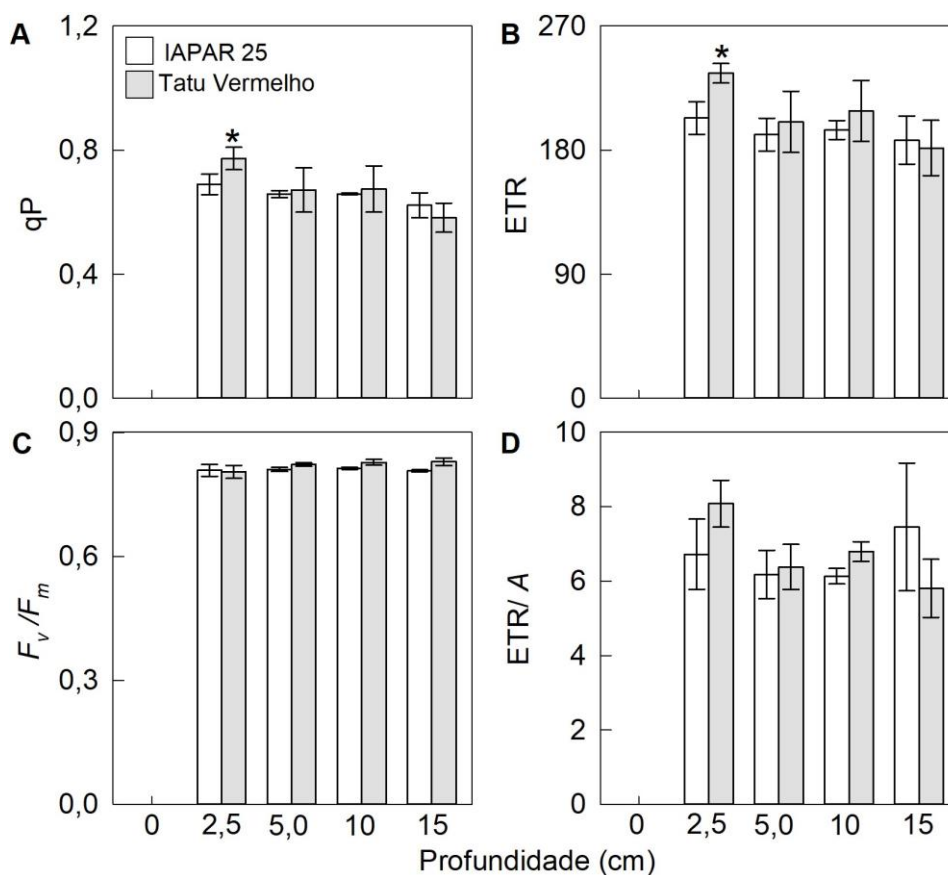


**Figura 9.** Efeitos das profundidades de plantio nas trocas gasosas de plantas de amendoim, cultivares IAPAR 25 e Tatu Vermelho, durante o desenvolvimento reprodutivo. **A** Taxa líquida de assimilação de  $\text{CO}_2$  ( $A$ ). **B** Concentração subestomática de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ). **C** Condutância estomática ( $g_s$ ). **D** Taxa de transpiração ( $E$ ). **E** Taxa de respiração no escuro ( $R_d$ ). Os asteriscos indicam diferenças significativas entre as cultivares dentro das profundidades de plantio pelo Teste  $t$  ( $P < 0,05$ ). Médias de três repetições  $\pm$  erro da média.

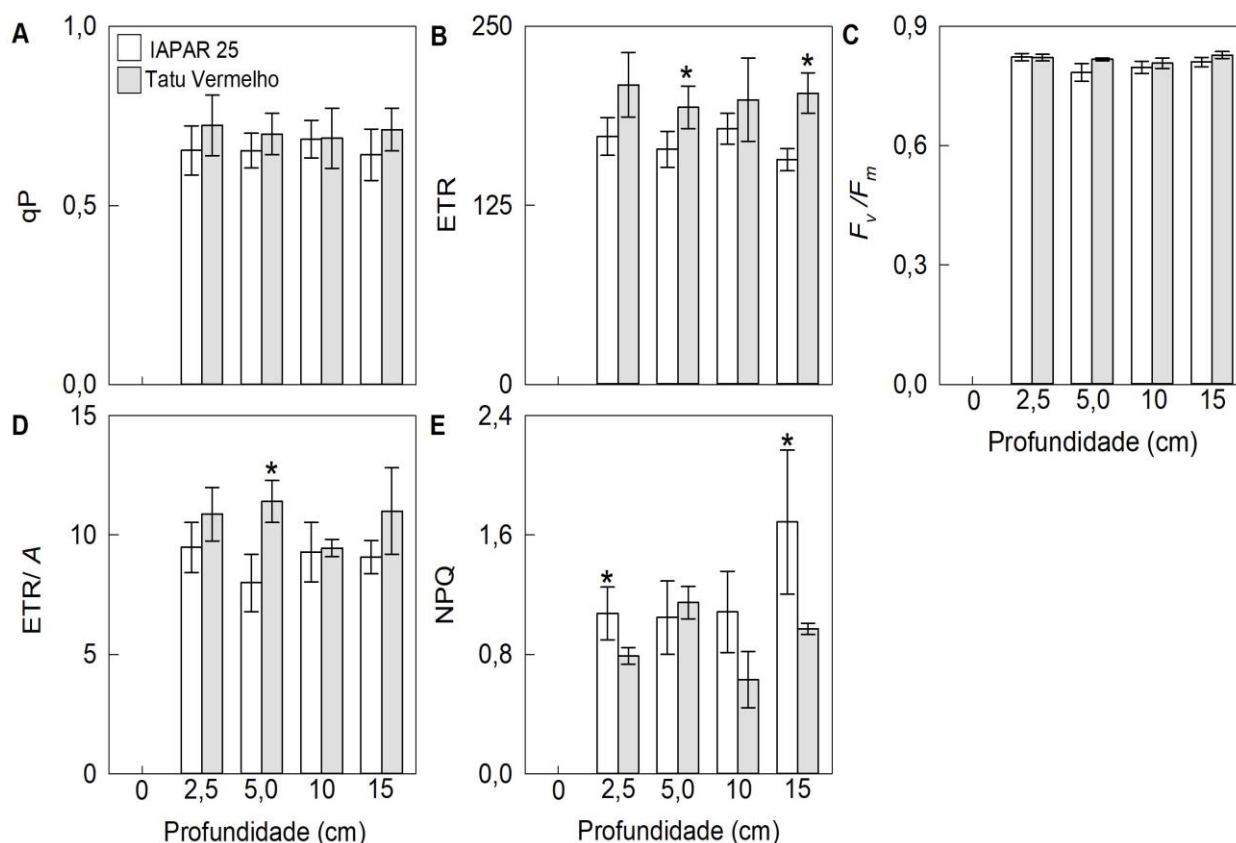
Examinou-se também o efeito das profundidades de plantio na fluorescência da clorofila das plantas de amendoim nas fases de desenvolvimento vegetativo e reprodutivo (Figuras 10, 11). De forma geral, não houve efeito da profundidade de plantio na fluorescência da clorofila durante o desenvolvimento das plantas, apenas algumas diferenças entre as cultivares estudadas (Figura 10). Verificou-se que, na fase vegetativa, na profundidade de 2,5 cm o coeficiente de extinção fotoquímico ( $qP$ ) aumentou em 25% para a cultivar Tatu Vermelho em comparação com a cultivar IAPAR 25 (Figura 10A). Além disso, a profundidade de 2,5 cm também promoveu um aumento de 25% na taxa de transporte de elétrons ( $ETR$ ) na cultivar Tatu Vermelho em relação a cultivar IAPAR 25 (Figura 10B). Por outro lado, a eficiência

fotoquímica máxima do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) e a razão entre a taxa de transporte de elétrons e a taxa líquida de assimilação de  $CO_2$  ( $ETR/A$ ) não foram afetadas pela profundidade de plantio para ambas cultivares (Figura 10C-D).

Na fase reprodutiva, o coeficiente de extinção fotoquímico ( $qP$ ), na fase reprodutiva não foi afetado pelas profundidades de plantio para ambas cultivares (Figura 11A). A taxa de transporte de elétrons ( $ETR$ ) mostrou-se significativamente maior nas profundidades de 5,0 cm e 15 cm na cultivar Tatu Vermelho em relação a cultivar IAPAR 25 (Figura 11B). Observou-se, também, que as plantas de amendoim cultivar Tatu Vermelho exibiram um aumento de 15% e 23% na taxa de transporte de elétrons ( $ETR$ ) nas profundidades de 5,0 cm e 15 cm, respectivamente, em comparação com a cultivar IAPAR 25 (Figura 11B). Ademais, a eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) não foi afetada pelas profundidades de plantio para ambas cultivares (Figura 11C). Por outro lado, a razão entre a taxa de transporte de elétrons e a taxa líquida de assimilação de  $CO_2$  ( $ETR/A$ ), em geral, mostrou-se maior na cultivar Tatu Vermelho em relação a cultivar IAPAR 25. Observou-se que na profundidade de 5,0 cm a  $ETR/A$  aumentou em 30% para a cultivar Tatu Vermelho em comparação com a cultivar IAPAR 25 (Figura 11D). As plantas de amendoim cultivar IAPAR 25 exibiram um aumento de 27% e 42% no coeficiente de extinção não-fotoquímico ( $NPQ$ ) nas profundidades de 2,5 cm e 15 cm, respectivamente, em comparação com a cultivar Tatu Vermelho (Figura 11E).



**Figura 10.** Efeitos das profundidades de plantio na fluorescência da clorofila de plantas de amendoim, cultivares IAPAR 25 e Tatu Vermelho, durante o desenvolvimento vegetativo. **A** Coeficiente de extinção fotoquímica ( $qP$ ). **B** Taxa de transporte de elétrons ( $ETR$ ). **C** Eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ). **D** Razão entre a Taxa de transporte de elétrons e a Taxa líquida de assimilação de  $CO_2$  ( $ETR/A$ ). Os asteriscos indicam diferenças significativas entre as cultivares dentro das profundidades de plantio pelo Teste  $t$  ( $P < 0,05$ ). Médias de três repetições  $\pm$  erro da média.



**Figura 11.** Efeitos das profundidades de plantio na fluorescência da clorofila de plantas de amendoim, cultivares IAPAR 25 e Tatu Vermelho, durante o desenvolvimento reprodutivo. **A** Coeficiente de extinção fotoquímica ( $qP$ ). **B** Taxa de transporte de elétrons ( $ETR$ ). **C** Eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ). **D** Razão entre a taxa de transporte de elétrons e a Taxa líquida de assimilação de  $CO_2$  ( $ETR/A$ ). **E** Coeficiente de extinção não-fotoquímico ( $NPQ$ ). Os asteriscos indicam diferenças significativas entre as cultivares dentro das profundidades de plantio pelo Teste  $t$  ( $P < 0,05$ ). Médias de três repetições  $\pm$  erro da média.

#### 4 Discussão

A germinação e o estabelecimento das plântulas são etapas primárias do desenvolvimento vegetal sendo influenciadas por fatores endógenos como concentração de hormônio e minerais bem como por condições do ambiente como temperatura e disponibilidade de água (Finch-Savage & Bassel 2016). Assim, o estabelecimento das plântulas bem sucedido tem papel determinante na sobrevivência e no rendimento das culturas (Finch-Savage & Bassel 2016). Dentre os hormônios, o etileno parece ser um fator essencial para germinação de sementes de *Stylosanthes humilis* bem como para o sucesso da emergência das plântulas no solo (Ribeiro et al., 2018). Ademais, Shi et al., (2016) demonstraram que CONSTITUTIVE

PHOTOMORPHOGENESIS 1 (COP1) e o etileno foram necessários para as plântulas de *Arabidopsis* responderem aos efeitos do escuro e ao estresse mecânico imposto pelo solo. Uma característica comum associada às sementes de amendoim é a produção de etileno (Ketring & Morgan 1972; Rajan et al., 2020; BurrIDGE et al., 2020), molécula que parece chave para a germinação das sementes desta espécie. Neste contexto, o efeito do etileno na germinação das sementes de amendoim bem como o efeito da profundidade de plantio no desenvolvimento vegetativo e reprodutivo das plantas de amendoim foram examinados no presente estudo. Os resultados mostraram que a produção de etileno das sementes de amendoim de ambas as cultivares foi fortemente inibida por AVG, um inibidor da enzima chave da biossíntese do etileno (Figura 1A-B). Além disso, o AVG foi eficiente em inibir a germinação das sementes da cultivar IAPAR 25 e Tatu Vermelho (Figura 1C-D). Consistente com esses resultados, solução de ACC aumentou a velocidade de germinação das sementes de ambas as cultivares entre o intervalo de 6-12 h de incubação (Figura 1C-D). Juntos, esses resultados sugerem que o etileno desempenha um papel na germinação das sementes de amendoim. O fato de o etileno induzir a germinação das sementes da cultivar IAPAR 25 e Tatu Vermelho foi esperado, já que resultados preliminares foram relatados por Ketring et al., (1972) e Whitehead & Nelson (1992). No entanto, o fato de o aumento da profundidade de plantio das sementes no solo ter reduzido a biossíntese de etileno das sementes das cultivares IAPAR 25 e Tatu Vermelho era desconhecido. Esse fato é especialmente importante considerando que o aumento da profundidade de plantio das sementes no solo leva a uma resposta positiva na biossíntese de etileno de várias espécies como *Arabidopsis* e algodão (Zhong et al., 2014; Li et al., 2021). Dessa forma, é bastante provável que a redução na biossíntese de etileno atue como um sinal necessário para o estabelecimento e a sobrevivência das plântulas de amendoim das cultivares IAPAR 25 e Tatu Vermelho, sob condição cultivo em solo. Assim, o efeito da alteração na

produção de etileno das sementes em resposta à profundidade de plantio foi investigado mais detalhadamente durante a emergência das plântulas.

A profundidade de plantio tem impacto sob a morfologia e desenvolvimento inicial das plântulas (Jørgensen et al., 2019). Os resultados mostraram que a biossíntese do etileno foi reduzida progressivamente com o aumento da profundidade de plantio das sementes. Assim, muitas das alterações morfológicas das plântulas, observadas nas profundidades de 0 cm e 15 cm podem estar relacionadas aos níveis de etileno produzidos durante germinação das sementes de amendoim (Figuras 2, 3, 4, 5). Por exemplo, na profundidade de 0 cm a elevada produção de etileno provavelmente inibiu o desenvolvimento da parte aérea, reduzindo o número de folhas e área foliar (Figura 3C-D). De fato, a elevação na produção de etileno induz uma redução no alongamento das folhas do *Arabidopsis* por inibir a expressão de genes que codifica para as proteínas EXPANSINAS (Dubois et al., 2018). Interessantemente, a biossíntese de etileno das sementes das cultivares IAPAR 25 e Tatu Vermelho foi fortemente reduzida na profundidade de 15 cm, levando a uma inibição no desenvolvimento da parte aérea das plântulas. Esse resultado sugere que uma concentração mínima de etileno parece ser necessária para o desenvolvimento da parte aérea das plântulas de amendoim. Apesar de o etileno ter sido, por muito tempo, reconhecido como um inibidor de crescimento (Wen 2015), sabe-se que esse hormônio gasoso também pode ser um indutor do crescimento e desenvolvimento das plantas (Pierik et al., 2006). Dessa forma, é bastante provável que o etileno atue como um sinal necessário para o desenvolvimento da parte aérea das plântulas de amendoim sob condição de maior profundidade de plantio das sementes.

O crescimento do hipocótilo é uma característica importante que afeta o estabelecimento de plântulas sob diferentes profundidades de plantio (Zhen et al., 2021). Neste estudo, as maiores profundidades de plantio (10 cm e 15 cm) promoveram um aumento no alongamento do epicótilo e hipocótilo (Figura 3E-F). Esta observação é consistente com um estudo anterior

no qual o alongamento do hipocótilo de plântulas de amendoim também foi aumentado em sementeiras profundas (Zhen et al., 2021). Interessantemente, as profundidades de plantio de 0 cm e 15 cm reduziram a biomassa seca radicular e da parte aérea, durante o desenvolvimento vegetativo das plântulas em ambas as cultivares, quando comparadas as profundidades de 2,5 e 5,0 cm. Esses resultados sugerem que a profundidade de plantio rasa (0 cm) aumenta a produção de etileno em plântulas de amendoim, afetando o desenvolvimento das plântulas de amendoim. Ademais, a profundidade de plantio maior (15 cm) induz menor produção de etileno, aumenta o tempo de emergência das plântulas, afetando negativamente o desenvolvimento do amendoim. Por outro lado, as plântulas de amendoim mantêm um equilíbrio funcional entre a biossíntese de etileno e o crescimento da parte aérea e da raiz em resposta a profundidade de plantio de 2,5 e 5,0 cm.

O alongamento da raiz, volume de raiz e número de raízes laterais também foram reduzidos quando a profundidades de plantio foram de 0 cm e 15 cm em relação às profundidades de 2,5 cm e 5,0 cm (Figura 5A-C-D). Esses resultados sugerem que a maior concentração de etileno produzido pelas plântulas na profundidade de plantio de 0 cm promoveu uma redução no número de raízes laterais (Figura 5D). Parece viável sugerir que a elevada concentração de etileno nas raízes de plântulas de amendoim desenvolvidas sob profundidades rasas de plantio poderia estimular o transporte de auxina, o que reduziria o desenvolvimento das raízes laterais (Lewis et al., 2011; Ahammeda et al., 2020). Por outro lado, sabe-se que a arquitetura do sistema radicular pode restringir a absorção de água, e, que por conseguinte pode atrasar o crescimento das plântulas, afetando o estabelecimento uniforme do estande de plantas e a produção das culturas (Baz et al., 2020). Esse fato deve ser considerando na profundidade de plantio de 15 cm, na qual foi observada uma redução da biossíntese de etileno das sementes, em ambas cultivares. Nessas condições, é possível que a redução no desenvolvimento do sistema radicular esteja relacionada ao efeito induzido pelo maior tempo

para emergir do solo, com maiores gasto de energia para o desenvolvimento do epicótilo e hipocótilo da plântula (Zhen et al., 2021).

Sabe-se que até a plântula possa desenvolver a competência fotossintética, o desenvolvimento pós-germinativo é suprido pelas reservas armazenadas na semente (Gommers & Monte 2018). Portanto, uma rápida mobilização de reservas armazenadas para o desenvolvimento pós-germinativo é essencial para o estabelecimento de plântula e o subsequente desenvolvimento reprodutivo (Yu et al., 2014). Os resultados do presente trabalho indicam que profundidade de plantio altera a biossíntese de etileno e, que este fator afeta negativamente o desenvolvimento vegetativo das plantas de amendoim sob profundidades de plantio rasas e profundas. Assim, parece razoável supor, que a partir dos resultados observados no crescimento vegetativo, a biossíntese de etileno e a profundidade de plantio afetaria também a produção de vagens e grãos de amendoim. Contudo, não ocorreu qualquer alteração significativa na produtividade e produção de biomassa seca total para ambas cultivares de amendoim desenvolvidas sob profundidades de 2,5 a 15 cm (Figura 6A-C). Entretanto, é interessante destacar que as plântulas desenvolvidas na profundidade de 0 cm não completaram seu ciclo de vida, possivelmente, devido à produção excessiva de etileno. Por outro lado, as plântulas desenvolvidas nas profundidades de 10 cm e 15 cm, apesar do crescimento inicial reduzido, progrediram para o desenvolvimento reprodutivo (Figuras 6, 7). A cultivar Tatu Vermelho apresentou uma pequena redução no número de vagens/planta na profundidade de 15 cm, mas a produtividade não foi comprometida (Figura 7A). Portanto, o presente estudo mostrou que apesar das profundidades de plantio de 10 e 15 cm serem desvantajosas para o desenvolvimento inicial das plântulas o desenvolvimento reprodutivo não foi afetado em ambas as cultivares de amendoim.

A produtividade das culturas é determinada pelas taxas de assimilação fotossintética de CO<sub>2</sub> e pelas taxas respiratórias (Morales et al., 2020). Nesse sentido, os resultados do presente

estudo revelaram que não houve alterações nos parâmetros fotossintéticos e na fluorescência da clorofila tanto na fase vegetativa quanto na fase reprodutiva para ambas cultivares desenvolvida nas profundidades de plantio de 2,5 a 15 cm (Figuras 8-11). Assim, esses dados fornecem evidência de que as plântulas de amendoim conseguem adaptar às condições de maior profundidade de plantio.

## **5 Conclusões**

Os resultados deste estudo mostram o papel do etileno na germinação de sementes de amendoim cultivar IAPAR 25 e Tatu-Vermelho bem como a importância da regulação da produção do regulador gasoso para o desenvolvimento do amendoim em resposta a profundidade de plantio das sementes no solo. Em profundidades de plantio maiores (10 e 15 cm) a biossíntese de etileno é reduzida e o crescimento inicial das plântulas é afetado diminuindo o número de folhas, área foliar e raízes, com aumento no tempo para a emergência. Por outro lado, em semeadura superficial (0 cm) ocorre um aumento na biossíntese de etileno, reduzindo o crescimento da plântula. As plântulas de amendoim mantêm um equilíbrio funcional entre a biossíntese de etileno e o crescimento da parte aérea e da raiz em resposta a profundidade de plantio de 2,5 e 5,0 cm. Assim, a capacidade de sintetizar etileno constitui um requisito importante no desenvolvimento das plântulas de amendoim em resposta à profundidade de plantio. Ademais, as alterações na biossíntese de etileno pelas sementes em resposta à profundidade de plantio mais profundas não alteram o desenvolvimento reprodutivo. Isso ressalta a capacidade adaptativa das plantas de amendoim às condições de plantio em profundidades maiores.

## 6 Referências

- Ahammed, G. J., Gantait, S., Mitra, M., Yang, Y., & Li, X. (2020). Role of ethylene crosstalk in seed germination and early seedling development: A review. *Plant Physiology and Biochemistry*, 151, 124-131.
- Baz, H., Creech, M., Chen, J., Gong, H., Bradford, K., & Huo, H. (2020). Water-soluble carbon nanoparticles improve seed germination and post-germination growth of lettuce under salinity stress. *Agronomy*, 10, 1192.
- Bulgarelli, E. M. B. (2008). Caracterização de variedades de amendoim cultivadas em diferentes populações.
- Burridge, J. D., Rangarajan, H., & Lynch, J. P. (2020). Comparative phenomics of annual grain legume root architecture. *Crop science*, 60, 2574-2593.
- Corbineau, F., Xia, Q., Bailly, C., & El-Maarouf-Bouteau, H. (2014). Ethylene, a key factor in the regulation of seed dormancy. *Frontiers in Plant Science*, 5, 539.
- Dubois, M., Van den Broeck, L., & Inzé, D. (2018). The pivotal role of ethylene in plant growth. *Trends in Plant Science*, 23, 311-323.
- Ella, E. S., Dionisio-Sese, M. L., & Ismail, A. M. (2011). Seed pre-treatment in rice reduces damage, enhances carbohydrate mobilization and improves emergence and seedling establishment under flooded conditions. *AoB Plants*, 2011.
- Embrapa (2013). Sistema brasileiro de classificação de solos. Centro Nacional de Pesquisa de Solos: Rio de Janeiro, 3.
- FAOSTAT – Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database. Available online: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (accessed on 27 AUGUST 2021)
- Fatma, M., Asgher, M., Iqbal, N., Rasheed, F., Sehar, Z., Sofo, A., & Khan, N. A. (2022). Ethylene Signaling under Stressful Environments: Analyzing Collaborative Knowledge. *Plants*, 11, 2211.
- Finch-Savage, W. E., & Bassel, G. W. (2016). Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. *Journal of Experimental Botany*, 67, 567-591.
- Forcella, F., Arnold, R. L. B., Sanchez, R., & Ghersa, C. M. (2000). Modeling seedling emergence. *Field Crops Research*, 67, 123-139.
- Gesch, R. W., Dose, H. L., & Forcella, F. (2017). Camelina growth and yield response to sowing depth and rate in the northern Corn Belt USA. *Industrial crops and products*, 95, 416-421.
- Gommers, C. M., & Monte, E. (2018). Seedling establishment: a dimmer switch-regulated process between dark and light signaling. *Plant physiology*, 176, 1061-1074.
- Harkey, A. F., Yoon, G. M., Seo, D. H., DeLong, A., & Muday, G. K. (2019). Light modulates ethylene synthesis, signaling, and downstream transcriptional networks to control plant development. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1094.
- Harper, J. L., Lovell, P. H., & Moore, K. G. (1970). The shapes and sizes of seeds. Annual review of ecology and systematics, 1, 327-356.

- Houben, M., & Van de Poel, B. (2019). 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase (ACO): the enzyme that makes the plant hormone ethylene. *Frontiers in Plant Science*, 10, 695.
- Huang, P., Dong, Z., Guo, P., Zhang, X., Qiu, Y., Li, B., Wang, Y., & Guo, H. (2020). Salicylic acid suppresses apical hook formation via NPR1-mediated repression of EIN3 and EIL1 in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 32, 612-629.
- Jørgensen, M. S., Labouriau, R., & Olesen, B. (2019). Seed size and burial depth influence *Zostera marina* L. (eelgrass) seed survival, seedling emergence and initial seedling biomass development. *PloS one*, 14, e0215157.
- Ketring, D. L., & Morgan, P. W. (1972). Physiology of Oil Seeds: IV. Role of Endogenous Ethylene and Inhibitory Regulators during Natural and Induced Afterripening of Dormant Virginia-type Peanut Seeds. *Plant Physiology*, 50, 382-387.
- Ketring, D., & Morgan, P. W. (1969). Ethylene as a component of the emanations from germinating peanut seeds and its effect on dormant Virginia-type seeds. *Plant Physiology*, 44, 326-330.
- Lawlor, D. W. (1995). Photosynthesis, productivity and environment. *Journal of Experimental Botany*, 46 (special\_issue), 1449-1461.
- Lewis, D. R., Negi, S., Sukumar, P., & Muday, G. K. (2011). Ethylene inhibits lateral root development, increases IAA transport and expression of PIN3 and PIN7 auxin efflux carriers. *Development*, 138, 3485-3495.
- Li, X., Kong, X., Zhou, J., Luo, Z., Lu, H., Li, W., Tang, W., Zhang, D., Ma, C., Zhang, H., & Dong, H. (2021). Seeding depth and seeding rate regulate apical hook formation by inducing GhHLS1 expression via ethylene during cotton emergence. *Plant Physiology and Biochemistry*, 164, 92-100.
- Liu, H., Liang, X., Lu, Q., Li, H., Liu, H., Li, S., Varshney, R., Hong, Y., & Chen, X. (2020). Global transcriptome analysis of subterranean pod and seed in peanut (*Arachis hypogaea* L.) unravels the complexity of fruit development under dark condition. *Scientific Reports*, 10, 1-12.
- Malamy, J. E. (2005). Intrinsic and environmental response pathways that regulate root system architecture. *Plant, cell & environment*, 28, 67-77.
- Martins, S. C., Galmes, J., Cavatte, P. C., Pereira, L. F., Ventrella, M. C., & DaMatta, F. M. (2014). Understanding the low photosynthetic rates of sun and shade coffee leaves: bridging the gap on the relative roles of hydraulic, diffusive and biochemical constraints to photosynthesis. *PLoS One*, 9, e95571.
- Matilla, A. J., & Matilla-Vázquez, M. A. (2008). Involvement of ethylene in seed physiology. *Plant Science*, 175, 87-97.
- Netondo, G. W., Onyango, J. C., & Beck, E. (2004). Sorghum and salinity: II. Gas exchange and chlorophyll fluorescence of sorghum under salt stress. *Crop science*, 44, 806-811.
- Pattyn, J., Vaughan-Hirsch, J., & Van de Poel, B. (2021). The regulation of ethylene biosynthesis: A complex multilevel control circuitry. *New Phytologist*, 229, 770-782.
- Pierik, R., Tholen, D., Poorter, H., Visser, E. J., & Voesenek, L. A. (2006). The Janus face of ethylene: growth inhibition and stimulation. *Trends in Plant Science*, 11, 176-183.

- Polko, J. K., & Kieber, J. J. (2019). 1-aminocyclopropane 1-carboxylic acid and its emerging role as an ethylene-independent growth regulator. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1602.
- Qin, H., & Huang, R. (2018). Auxin controlled by ethylene steers root development. *International Journal of Molecular Sciences*, 19, 3656.
- Rajan, D., Kumar, R., Devyani, K., & Ramya, M. J. (2020). Role of Ethrel and Storage in Dormancy Breaking in Groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9, 2550-2564.
- Ribeiro, R. P., Costa, L. C., Medina, E. F., Araújo, W. L., Zsögön, A., & Ribeiro, D. M. (2018). Ethylene coordinates seed germination behavior in response to low soil pH in *Stylosanthes humilis*. *Plant and soil*, 425, 87-100.
- Salazar-Parra, C., Aguirreolea, J., Sánchez-Díaz, M., Irigoyen, J. J., & Morales, F. (2012). Climate change (elevated CO<sub>2</sub>, elevated temperature and moderate drought) triggers the antioxidant enzymes' response of grapevine cv. Tempranillo, avoiding oxidative damage. *Physiologia plantarum*, 144, 99-110.
- Saltveit, M. E., & Yang, S. F. (1987). Ethylene. The principles and practice of plant hormone analysis. *Academic Press*, London, 367-401.
- Santos, R. C., Freire, R. M. M., & Suassuna, T. (2009). Amendoim: o produtor pergunta, a Embrapa responde. Área de Informação da Sede-Col Criar Plantar ABC 500P/500R Saber (INFOTECA-E).
- Shi, H., Liu, R., Xue, C., Shen, X., Wei, N., Deng, X. W., & Zhong, S. (2016). Seedlings transduce the depth and mechanical pressure of covering soil using COP1 and ethylene to regulate EBF1/EBF2 for soil emergence. *Current Biology*, 26, 139-149.
- Van de Poel, B., & Van Der Straeten, D. (2014). 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) in plants: more than just the precursor of ethylene! *Frontiers in Plant Science*, 5, 640.
- Vissenberg, K. (2021). Plant biology: Positive feedback between auxin and cell wall mechanics during apical hook formation. *Current Biology*, 31, R306-R309.
- Wen, C. K. (Ed.). (2014). *Ethylene in plants*. Springer.
- Whitehead, C. S., & Nelson, R. M. (1992). Ethylene sensitivity in germinating peanut seeds: the effect of short-chain saturated fatty acids. *Journal of Plant Physiology*, 139, 479-483.
- Yu, Y., & Huang, R. (2017). Integration of ethylene and light signaling affects hypocotyl growth in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science*, 8, 57.
- Yu, Y., Guo, G., Lv, D., Hu, Y., Li, J., Li, X., & Yan, Y. (2014). Transcriptome analysis during seed germination of elite Chinese bread wheat cultivar Jimai 20. *BMC plant biology*, 14, 1-19.
- Zhang, K., Pan, J., Chen, Y., Wei, Y., Du, H., Sun, J., Lv, D., Wen, H., He, H., Wang, G., & Cai, R. (2021). Mapping and identification of CsSh5. 1, a gene encoding a xyloglucan galactosyltransferase required for hypocotyl elongation in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 1-13.
- Zhen, X., Gao, F., Li, X., Liu, Z., Zhao, J., Li, Y., Wang, Y., Li, Y., Wang, Z. Y., Lai, H., Xiaoyi, P. & Yang, D. (2021). Responses of hypocotyl growth and seedling emergence with respect to soil sowing depth stress in peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Archives of Agronomy and Soil Science*, 67, 519-535.

- Zhong, S., Shi, H., Xue, C., Wei, N., Guo, H., & Deng, X. W. (2014). Ethylene-orchestrated circuitry coordinates a seedling's response to soil cover and etiolated growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111, 3913-3920.
- Zhou, Y., Coventry, D. R., & Denton, M. D. (2017). Soil surface pressure reduces post-emergent shoot growth in wheat. *Plant and Soil*, 413, 127-144.
- Zhu, J., Kaepler, S. M., & Lynch, J. P. (2005). Mapping of QTLs for lateral root branching and length in maize (*Zea mays* L.) under differential phosphorus supply. *Theoretical and Applied Genetics*, 111, 688-695.

## **CAPÍTULO 2 – Aspectos fisiológicos do desenvolvimento do ginóforo em resposta a diferentes níveis nutricionais**

### **Resumo**

O ginóforo é o órgão responsável por conduzir o ovário recém fertilizado ao solo e sua falha de penetração no solo causa aborto da semente. Assim, perdas de rendimentos do amendoim (*Arachis hypogaea* L.) estão associadas a falha de penetração do ginóforo no solo. Além disso, estudos têm mostrado o efeito da deficiência de cálcio no solo na produtividade e qualidade das vagens de amendoim. Neste contexto, o presente estudo objetivou investigar os efeitos da nutrição mineral e o do cálcio no desenvolvimento do ginóforo e na formação da semente do amendoim. Para isso, ginóforos de amendoim da cultivar IAPAR 25 foram incubados por 5 e 15 dias em tubos Falcons (50 mL) contendo vermiculita, areia ou substrato comercial. Os ginóforos aéreos também foram analisados no mesmo intervalo de tempo. Para explorar o efeito do cálcio, ginóforos foram incubados por 15 e 60 dias em tubos Falcons (50 mL) contendo vermiculita, com adição de solução nutritiva de Hoagland (1/2 força) contendo ou não cálcio na sua formulação. Avaliou-se os parâmetros morfológicos, metabólicos, anatômicos e as concentrações de minerais. Observou-se que a morfologia dos ginóforos do amendoim foi alterada pelos meios de incubação, períodos de incubação e pela adição de cálcio. O maior alongamento dos ginóforos foi observado em vermiculita, no período de incubação de 5 dias, enquanto que no período de incubação de 15 dias, o maior alongamento foi observado nos ginóforos aéreos. Em geral, as maiores concentrações de açúcares totais, glicose e frutose foram observados nos ginóforos desenvolvidos em vermiculita. Em contraste, os ginóforos aéreos apresentaram reduções nos níveis de açúcares, maior consumo de O<sub>2</sub> bem como as maiores concentrações de fósforo, potássio, cálcio, zinco, ferro e cobre. Por outro lado, as alterações na anatomia dos embriões só foram observadas aos 15 dias de incubação, mas não foi possível identificar o desenvolvimento dos embriões dos ginóforos incubados nos substratos areia e

vermiculita. Ademais, o fornecimento de cálcio a vermiculita aumentou a disponibilidade de nutrientes o que proporcionou a formação da semente e do fruto do amendoim.

Palavras-chave: Fruto geocárpico; Metabolismo de carboidratos; Anatomia; Cálcio; Acúmulo de minerais.

### **Physiological aspects of gynophore development in response to different nutrient levels**

#### **Abstract**

The gynophore is the organ responsible for driving newly fertilized ovaries into the soil. Its failure to penetrate the soil leads to seed abortion, resulting in yield losses in peanut (*Arachis hypogaea* L.). Studies have demonstrated the effect of soil calcium deficiency on peanut pod yield and quality. This study aimed to explore the effects of mineral nutrition and calcium on peanut gynophore development and seed formation. For this, gynophores of peanut IAPAR 25 were incubated for 5 and 15 days in Falcons tubes (50 mL) containing vermiculite, sand, or commercial substrate. Aerial gynophores were also analyzed in the same period. For assessment of the effect of calcium, gynophores were incubated for 15 and 60 days in Falcon tubes (50 mL) containing vermiculite and Hoagland nutrient solution (1/2 strength) with or without calcium. Morphological, metabolic, and anatomical parameters, as well as mineral concentrations, were evaluated. The morphology of peanut gynophores was influenced by incubation medium, incubation period, and calcium addition. The largest gynophore elongation was observed in vermiculite at 5 days of incubation. Among samples incubated for 15 days, the greatest elongation was observed in aerial gynophores. In general, the highest concentrations of total sugars, glucose, and fructose were observed in gynophores grown in vermiculite. By contrast, aerial gynophores showed reduced sugar levels, increased O<sub>2</sub> consumption, and increased levels

of phosphorus, potassium, calcium, zinc, iron, and copper. Changes in embryo anatomy were only observed at 15 days of incubation, but it was not possible to identify embryo development in samples grown in sand or vermiculite. Furthermore, calcium addition to vermiculite increased nutrient availability, promoting seed and fruit formation.

Keywords: Geocarpic fruit; Carbohydrate metabolism; Anatomy; Calcium; Mineral accumulation.

## 1 Introdução

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é uma das principais oleaginosas cultivadas no mundo. Nutricionalmente, as sementes de amendoim são compostas por lipídios (48-50%), proteínas (25-28%), carboidratos (10-20%), vitaminas e minerais (Kadirimangalam et al., 2022). Em termos de produção, no ano de 2023 a cultura do amendoim apresentou uma produção mundial de 50,4 milhões de toneladas (USDA 2024). Deste total, a China obteve uma produção anual de 18,8 milhões de toneladas, ocupando a primeira posição do ranking de maiores produtores de amendoim (USDA 2024). O Brasil, por sua vez, é o 11<sup>a</sup> produtor mundial, com uma produção de 890 mil de toneladas em 2023, sendo o Estado de São Paulo responsável por 92% da produção nacional (USDA 2024).

No cultivo do amendoim, as perdas do rendimento ocorrem, principalmente, devido à falha na penetração do ginóforo no solo (Chen et al., 2013; Kumar et al., 2019). O ginóforo é o órgão especializado no desenvolvimento reprodutivo do amendoim, formado a partir do alongamento das células do meristema intercalar, responsável por conduzir o ovário ao solo, após a fertilização (Periasamy & Sampooram 1984; Kumar et al., 2019). Ademais, o ginóforo apresenta características de caule de eudicotiledôneas, padrão de crescimento geotrópico

positivo e o seu alongamento resulta de um processo complexo, que envolve regulação por fatores endógenos e ambientais (Lee et al., 1972; Zhang et al., 2016).

Evidências mostram que o desenvolvimento embrionário e a formação da semente do amendoim são influenciados por fatores ambientais, hormonais e nutricionais. Por exemplo, já foi relatado a influência da luz sob o alongamento do ginóforo, no desenvolvimento do embrião e no desenvolvimento da vagem (Zhang et al., 2016; Liu et al., 2020; Wang et al., 2021). Alguns estudos de caracterização do desenvolvimento do fruto do amendoim mostraram que a falha na penetração do ginóforo no solo interrompe o desenvolvimento da semente, induzindo o aborto do embrião (Chen et al., 2013; Kumar et al., 2019). Em contraste, a penetração do ginóforo no solo induziu o desenvolvimento do embrião em estágio globular, com a presença de suspensor ligeiramente alongado, e o aumento da vagem (Zhang et al., 2016).

A formação do fruto do amendoim, além de ser influenciada por estímulos de luz parece depender dos níveis nutricionais do solo. Além da falha na penetração do ginóforo do solo, os níveis de macro e micronutrientes presentes no solo podem limitar o rendimento de semente do amendoim. Dentre os minerais necessários para a boa formação do ginóforo, fósforo, cálcio, enxofre, potássio e magnésio são requeridos em grandes quantidades e estão envolvidos no desenvolvimento adequado da vagem, formação do grão e síntese de óleo (Kadirimangalam et al., 2022). Entre esses nutrientes, em especial a deficiência de cálcio (Yang et al., 2017) está associada a redução do rendimento e produtividade. Assim, o cálcio tem-se mostrado essencial para a produtividade do amendoim (Chen et al., 2016; Yang et al., 2017).

A deficiência de cálcio reduz de forma mais expressiva o rendimento e qualidade do amendoim em comparação com quaisquer outros nutrientes no solo (Kadirimangalam et al., 2022). A necessidade de cálcio é muito alta, particularmente durante o estágio de desenvolvimento do ginóforo e o enchimento da vagem (Zharare et al., 1997). A deficiência de cálcio além de reduzir o rendimento e a qualidade, aumenta a incidência de doenças e causa

baixa germinação de sementes de amendoim (Kadirimangalam et al., 2022). A deficiência de cálcio também influencia o desenvolvimento das sementes e produz sementes abortadas e vagens vazias (Ntare et al., 2008). Também tem sido relatado que a deficiência de cálcio diminui a qualidade da semente por inibir o desenvolvimento da plúmula e apresenta uma correlação positiva entre a porcentagem de lóculos que encheram e a porcentagem de descascamento (Kamara et al., 2017).

A nutrição de cálcio do amendoim é complexa devido à natureza geocárpica do fruto e a imobilidade deste mineral no floema (Hamza et al., 2021), restringindo a redistribuição de cálcio para os tecidos mais jovens da planta (Kadirimangalam et al., 2022). Portanto, no caso do amendoim, há absorção direta do cálcio pelas vagens em formação subterrânea no solo (Foloni et al., 2016; Chen et al., 2022). Além disso, é interessante destacar que, normalmente, o pericarpo do fruto do amendoim contém de 3 a 5 vezes mais cálcio que as sementes, o que pode afetar a absorção de cálcio na semente (Yang et al., 2022). Além disso, às respostas das plantas a disponibilidade de nutrientes regulam a expressão de genes relacionados a processos metabólicos, morfológicos e de desenvolvimento (Mishra et al., 2022). No entanto, como o cálcio regula o desenvolvimento do fruto do amendoim, ainda é pouco conhecido.

Uma análise dos resultados acima leva a uma visão de como os minerais poderiam estar controlando o desenvolvimento do ginóforo. Permanece a lacuna sobre os fatores que regulam o aborto das sementes dentro das vagens aéreas, em decorrência da falha de penetração no solo e da nutrição mineral, o que implica diretamente no rendimento em vagens do amendoim (Zhu et al., 2014). Neste contexto, o presente trabalho objetivou investigar o efeito da nutrição mineral e do cálcio no desenvolvimento do ginóforo e na formação da semente do amendoim.

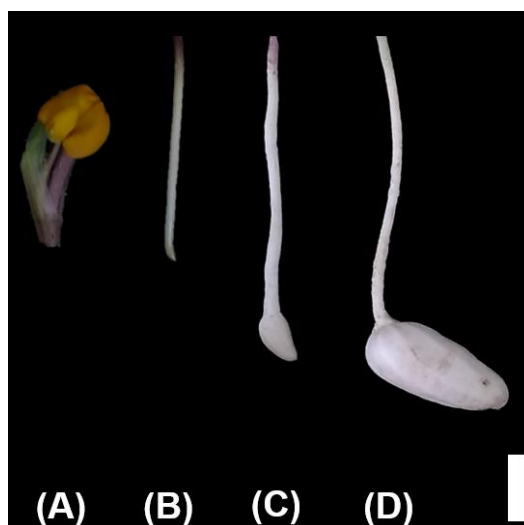
## 2 Material e métodos

### 2.1 Material vegetal e condução dos experimentos

Foram realizados dois experimentos independentes conduzidos em casa de vegetação, na Universidade Federal de Viçosa (20° 45' S, 42° 15' W), em Viçosa, Minas Gerais, Brasil. Sementes de amendoim, cultivar IAPAR 25 foram semeadas em vasos de 10 L, preenchidos com substrato comercial Tropstrato HT® e solo, na proporção de 2:1, e cultivadas até o final do ciclo. Para a coleta dos ginóforos e frutos, flores individuais foram marcadas no dia da antese.

O primeiro experimento foi realizado para investigar o papel dos níveis de elementos minerais no controle do desenvolvimento da semente. Os estágios do desenvolvimento do ginóforo analisados neste estudo, desde a antese até a maturação do fruto, são apresentados na Figura 1. Os ginóforos, após nove dias da antese, foram incubados em tubos Falcon com capacidade de 50 mL (pintados com tinta cor preta e com furos para drenagem), contendo areia, vermiculita ou substrato comercial Tropstrato HT® e irrigados diariamente com 10 mL de água, durante 5 e 15 dias. Como controle do experimento, os ginóforos aéreos também foram analisados.

O segundo experimento foi conduzido para avaliar o efeito do cálcio no desenvolvimento da semente. Os ginóforos foram colocados em tubo Falcon com capacidade de 50mL, contendo vermiculita e receberam 10 mL de solução nutritiva de Hoagland (1/2 força) completa (Controle) e modificada (-Ca) até o estágio de maturação completa dos frutos (Figura 1D). A composição das soluções nutritivas está descrita na Tabela 1.



**Figura 1.** Estágios do desenvolvimento do ginóforo do amendoim. **A** Flor do amendoim antes da fertilização. **B** Ginóforo do amendoim aos 5 dias após a penetração no solo. **C** Ginóforo do amendoim aos 15 dias após a penetração no solo. **D** Fruto desenvolvido aos 60 dias após a penetração no solo. Barra = 2 cm.

**Tabela 1.** Composição das soluções nutritivas Hoagland (1/2 força) completa (Controle) e modificada (-Ca).

Elemento	Solução completa	Solução modificada
	(+Ca)	(-Ca)
mmol L <sup>-1</sup>		
N – NO <sup>3-</sup>	14,0	14,0
N – NH <sup>4+</sup>	1,0	1,0
P	1,0	1,0
K <sup>+</sup>	6,0	6,0
Ca <sup>2+</sup>	5,0	-
Mg <sup>2+</sup>	2,0	2,0
SO <sub>4</sub>	2,0	2,0
B	0,05	0,05
Mn	0,009	0,009
Zn	0,0008	0,0008
Fe	0,019	0,019
Cu	0,0003	0,0003
Mo	0,0001	0,0001

## 2.2 Caracterização dos substratos de incubação

Os substratos de incubação usados no estudo foram selecionados devido às diferenças de suas composições minerais. A caracterização química dos meios de incubação foi realizada seguindo o protocolo de análise de rotina da Embrapa (1997) (Tabela 2).

**Tabela 2.** Caracterização dos substratos de incubação.

Substrato de incubação	pH	P	K	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Al <sup>3+</sup>	H <sup>+</sup> Al	SB	(t)	(T)	V	m
	H <sub>2</sub> O	mg/dm <sup>3</sup>	cmol/dm <sup>3</sup>					%				
Vermiculita	6,3	0,8	170	0,82	12,25	0,0	0,66	13,5	13,5	14,16	95,3	0,0
Areia	4,7	3,4	5	1,14	0,04	0,4	0,33	1,19	1,59	1,52	78,3	25,2
Comercial	5,8	243,7	950	9,05	5,49	0,0	5,94	16,97	16,97	22,91	74,1	0,0

pH em água, KCl e CaCl – Relação 1:2,5; P – K – Extrator Mehlich 1; Ca – Mg – Al – Extrator: KCl – 1 mol/L; H + Al – Extrator Acetato de Cálcio 0,5 mol/L – pH 7,0; SB = Soma de Bases Trocáveis; CTC (t) – Capacidade de Troca Catiônica Efetiva; CTC (T) – Capacidade de Troca Catiônica a pH 7,0; V = Índice de Saturação de Bases; m = Índice de Saturação de Alumínio.

### 2.3 Quantificação dos parâmetros morfológicos

O comprimento e diâmetro dos ginóforos foram medidos com auxílio de régua e paquímetro digital aos 5, 15 e 60 dias de incubação nos substratos. A biomassa seca foi determinada em balança de precisão, aos 60 dias de incubação na vermiculita.

### 2.4 Quantificação da respiração dos ginóforos

A respiração dos ginóforos, coletados após 5 dias de incubação nos substratos, foi quantificada por meio do consumo de O<sub>2</sub> utilizando um eletrodo de oxigênio tipo Clark (Hansatech Instruments, Oxylab+). Os ginóforos foram seccionados a 2 cm do ápice e o peso fresco foi mensurado, em seguida foram incubados em tampão (HEPES 50 mM, MES 10 mM pH 6,6 e CaCl<sub>2</sub> 0,2 mM) por 20 min no escuro (Jiang et al., 2019). Os ginóforos aéreos foram cobertos com papel alumínio por 2h. Transcorridos esse intervalo, os ginóforos aéreos passaram pelo mesmo procedimento supracitado.

### 2.6 Quantificação dos níveis metabólicos

Secções de 2 cm de comprimento a partir do ápice dos ginóforos foram coletadas após 5 e 15 dias de desenvolvimento, ao final do período de luz e imediatamente congelados e maceradas em nitrogênio líquido, e posteriormente armazenadas a -80 °C. A extração e a

quantificação de glicose, frutose e sacarose foi realizada conforme descrito por Cross et al., (2006). O conteúdo de aminoácidos totais foi quantificado de acordo com Gibon et al., (2006).

## **2.7 Análise anatômica**

Secções de 2 cm de comprimento a partir do ápice do ginóforo foram fixados em FAA50 (Formaldeído, Ácido acético e Álcool), por 48h, sob vácuo, e estocados em etanol 70 % (Johansen 1940). O processamento das amostras e a captura das imagens foram realizadas de acordo com Souza et al., (2018).

## **2.8 Quantificação dos níveis de macro e micronutrientes**

Secções 2 cm do ápice dos ginóforos foram lavadas em água destilada, acondicionados em sacos de papel e levados para secar em estufa de circulação forçada, a 65 °C, até atingir peso constante. Em seguidas, as amostras foram maceradas utilizando um almofariz e pistilo. Para quantificar os níveis de macro e micronutrientes as amostras foram submetidas a digestão nitro perclórica (65% e 70%), e analisadas em espectrofotômetro de emissão ótica em plasma induzido (ICP-OES, Perkin Elmer Optima 3000 DV), conforme descrito por Perkin Elmer (1993).

## **2.9 Análises estatísticas**

O delineamento experimental utilizado no experimento de crescimento dos ginóforos foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 2, três meios de incubação (vermiculita, areia e substrato comercial) + controle (aéreo) e dois períodos de incubação, aos 5 e 15 dias. A unidade experimental dos experimentos de análise de metabólitos foi composta por 30 mg de material vegetal, por reação, com seis repetições, por tratamento. Para as análises morfológicas foram utilizadas dez repetições. A unidade experimental dos experimentos de quantificação dos

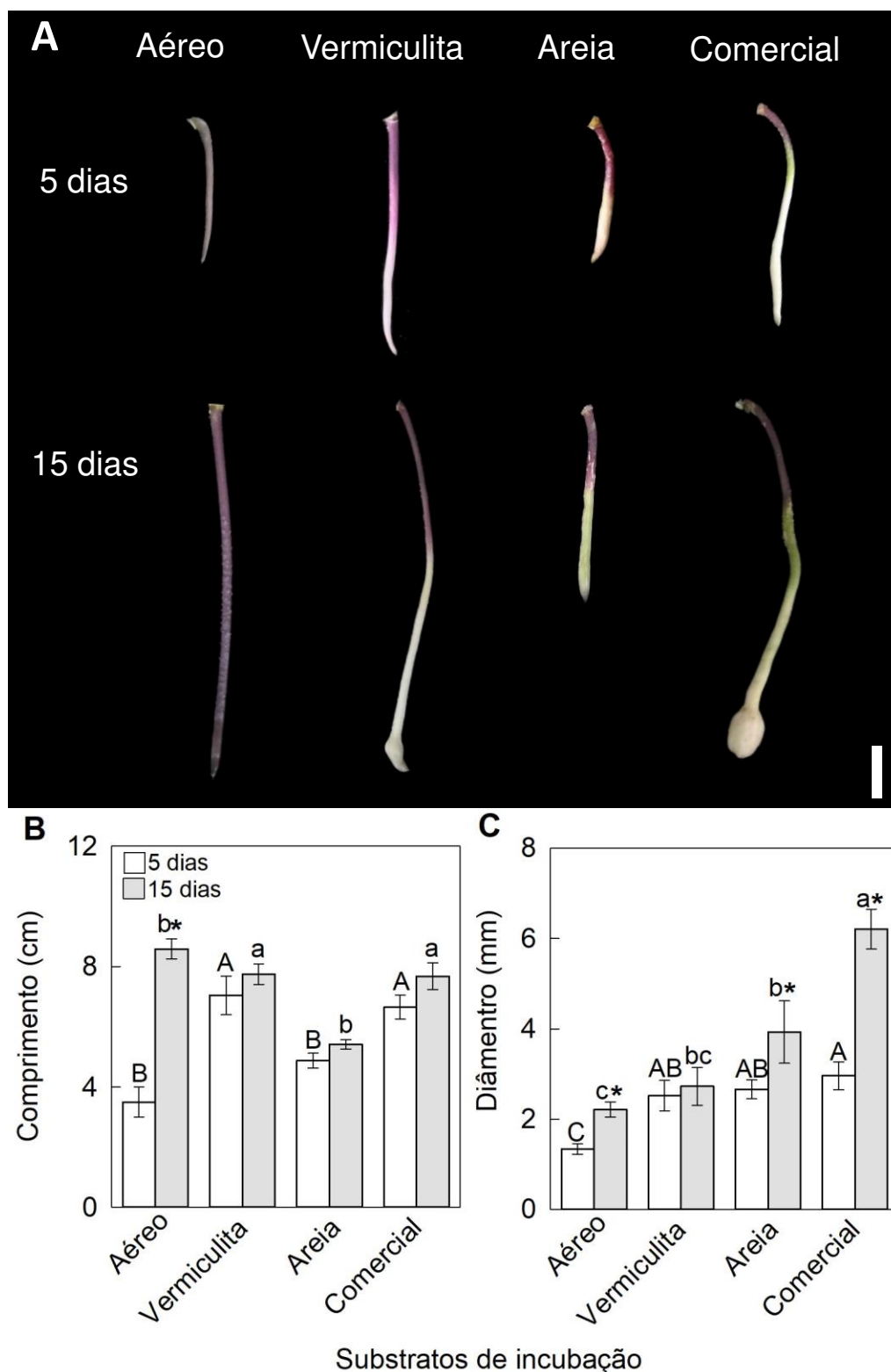
níveis de macro e micronutrientes foram compostas por 500 mg de material vegetal, por reação, com três repetições, por tratamento. O delineamento experimental do experimento do efeito do cálcio foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 2, duas soluções nutritivas (Controle e +Ca) e dois períodos de incubação, aos 15 e 60 dias. Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA,  $P < 0,05$ ) pelo teste F. As diferenças entre as médias foram analisadas pelos testes  $t$  e de Tukey variância ( $P < 0,05$ ). Todos os dados foram analisados usando-se o software SISVAR (Ferreira 2020).

### **3 Resultados**

#### *Desenvolvimento dos ginóforos*

Para investigar o envolvimento dos níveis de macro e micronutrientes no desenvolvimento do ginóforo do amendoim, os ginóforos foram incubados por 5 e 15 dias em condições com diferentes níveis nutricionais. O crescimento dos ginóforos foi afetado pela condição e período de incubação (Figura 2A). O alongamento do ginóforo incubado em vermiculita aumentou em 50%, no período de 5 dias de incubação, quando comparado com os ginóforos aéreos (Figura 2B). Por outro lado, os ginóforos incubados em areia exibiram uma redução de 37% no alongamento do ginóforo, no período de 15 dias de incubação, quando comparado com os ginóforos aéreos (Figura 2B). Além disso, observou-se que nos ginóforos aéreos o alongamento aumentou em 59% para o período de incubação de 15 dias em comparação com período de 5 dias (Figura 2B). O alongamento do ginóforo mostrou-se reduzido em areia, para ambos períodos de incubação, em relação a vermiculita e ao substrato comercial (Figura 2B). Os ginóforos exibiram um maior diâmetro no período de 15 dias de incubação no substrato comercial (Figura 2C). Uma redução de 55% e 64% no diâmetro foi observada nos ginóforos aéreos, nos períodos de incubação de 5 e 15 dias, respectivamente, em comparação com os ginóforos desenvolvidos no substrato comercial (Figura 2C). Além disso,

o diâmetro dos ginóforos, no período de incubação de 15 dias, aumentou em 39%, 32% e 52% nos ginóforos aéreos e nos ginóforos desenvolvidos em areia e substrato comercial, respectivamente, quando comparado com o período de incubação de 5 dias (Figura 2C). Juntos, esses resultados indicam que o meio de incubação pode induzir alterações morfológicas durante o crescimento e desenvolvimento ginóforo do amendoim.



**Figura 2.** Parâmetros morfológicos dos ginóforos aéreos e ginóforos incubados em vermiculita, areia e substrato comercial aos 5 e 15 dias. **A** Ginóforos aéreos e ginóforos incubados em vermiculita, areia e substrato comercial. **B** Comprimento do ginóforo. **C** Diâmetro do ginóforo. Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os meios de incubação aos 5 dias pelo Teste Tukey ( $P < 0,05$ ). Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os meios de incubação aos 15 dias pelo Teste Tukey ( $P < 0,05$ ). Os

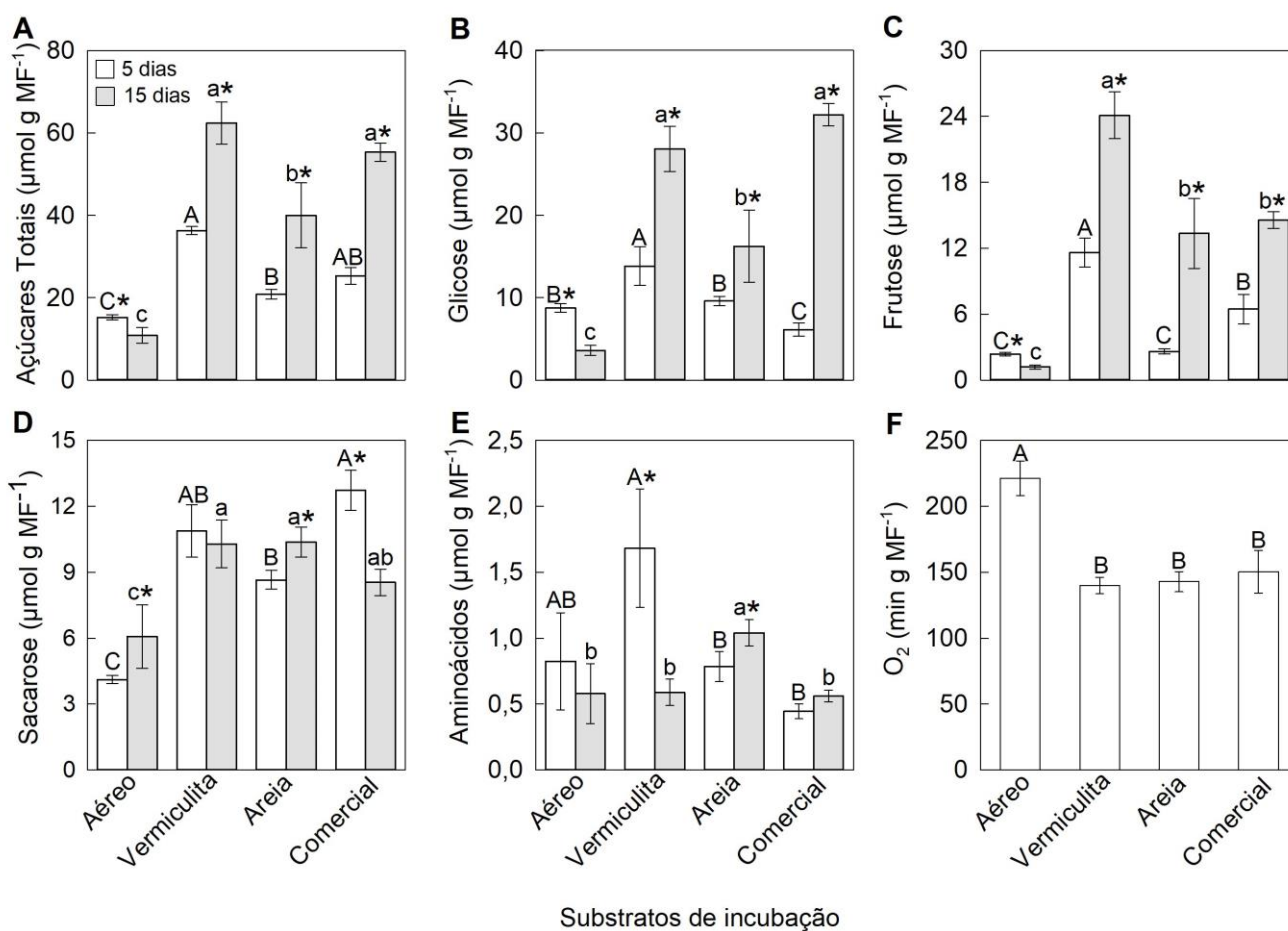
asteriscos indicam diferenças significativas entre os dias de incubação dentro dos meios de incubação pelo Teste  $t$  ( $P < 0,05$ ). Médias de dez repetições  $\pm$  erro da média. Barra = 2 cm.

### *Concentrações de açúcares, aminoácidos e respiração dos ginóforos*

As concentrações de carboidratos, aminoácidos e a respiração dos ginóforos foram afetadas pelos meios de incubação para ambos períodos de avaliação (Figura 3). A concentração de açúcares totais nos ginóforos desenvolvidos em vermiculita foi aumentada em 58% e 83% no período de incubação de 5 e 15 dias, respectivamente, quando comparado com os ginóforos aéreos (Figura 3A). Além disso, a concentração de açúcares totais nos ginóforos aéreos foi reduzida em 29% no período de incubação de 15 dias em relação ao período de incubação de 5 dias (Figura 3A). No período de incubação de 15 dias, a concentração de açúcares totais aumentou em 42%, 48% e 54% nos ginóforos desenvolvidos em vermiculita, areia e substrato comercial, respectivamente, quando comparado com o período de incubação de 5 dias (Figura 3A). Observou-se, também, que a concentração de glicose nos ginóforos desenvolvidos no substrato comercial exibiu uma redução de 56%, para o período de incubação de 5 dias, em comparação com os ginóforos desenvolvidos em vermiculita (Figura 3B). Por outro lado, observou-se que o substrato comercial promoveu um aumento na concentração de glicose dos ginóforos de 89% no período de 15 dias de incubação em comparação com os ginóforos aéreos (Figura 3B). No período de incubação de 15 dias, a concentração glicose nos ginóforos aéreos reduziu em 59% em relação ao período de incubação de 5 dias (Figura 3B). A concentração de glicose aumentou em 51%, 41% e 81% nos ginóforos desenvolvidos em vermiculita, areia e substrato comercial, respectivamente, no período de incubação de 15 dias em relação ao período de 5 dias (Figura 3B). Além disso, observou-se que a concentração de frutose nos ginóforos desenvolvidos em vermiculita foi aumentada em 80% e 95% nos períodos de incubação de 5 e 15 dias, respectivamente, em comparação com os ginóforos aéreos (Figura 3C). A concentração

frutose reduziu em 50% nos ginóforos aéreos, no período de incubação de 15 dias em relação ao período de 5 dias (Figura 3C). Por outro lado, a concentração frutose foi aumentada em 52%, 80% e 56% nos ginóforos desenvolvidos em vermiculita, areia e substrato comercial, respectivamente, no período de incubação de 15 dias em relação ao período de 5 dias (Figura 3C). A concentração de sacarose mostrou-se reduzida nos ginóforos aéreos, para ambos os períodos de incubação, quando comparado com os demais meios de incubação (Figura 3D). Observou-se que no substrato comercial a concentração de sacarose nos ginóforos foi aumentada em 68% no período de 5 dias de incubação, em relação aos ginóforos aéreos (Figura 3D). Além disso, a areia promoveu um aumento na concentração de sacarose nos ginóforos de 41%, no período de 15 dias de incubação, quando comparada com ginóforos aéreos (Figura 3D). A concentração de sacarose reduziu em 33% nos ginóforos desenvolvidos em substrato comercial, no período de incubação de 15 dias em relação ao período de incubação de 5 dias (Figura 3D). Observou-se, também, que o período de incubação de 15 dias houve um aumento na concentração de sacarose de 62% e 21% nos ginóforos aéreos e nos ginóforos desenvolvidos em areia, respectivamente, em comparação com o período de incubação de 5 dias (Figura 3D). Os ginóforos desenvolvidos em substrato comercial, no período de incubação de 5 dias, exibiram uma redução de 74% na concentração de aminoácidos totais, em comparação com os ginóforos desenvolvidos em vermiculita (Figura 3E). Ademais, uma redução de 46% na concentração de aminoácidos totais foi observada nos ginóforos desenvolvidos em substrato comercial, no período de incubação de 15 dias, em comparação com os ginóforos desenvolvidos em areia (Figura 3E). Observou-se que o período de incubação de 5 dias promoveu um aumento na concentração de aminoácidos totais de 85% nos ginóforos desenvolvidos em vermiculita, em comparação com o período de incubação de 15 dias (Figura 3E). Por outro lado, no período de incubação de 15 dias, observou-se que em areia a concentração de aminoácidos totais nos ginóforos foi aumentada em 25%, em relação ao período de incubação de 5 dias (Figura 3E). A

respiração dos ginóforos foi quantificada apenas no período de incubação de 5 dias. Neste contexto, os resultados revelaram que o consumo de  $O_2$  foi reduzido em 37%, 35% e 32% nos ginóforos desenvolvidos em vermiculita, areia e substrato comercial, respectivamente, em comparação com ginóforos aéreos (Figura 3F).

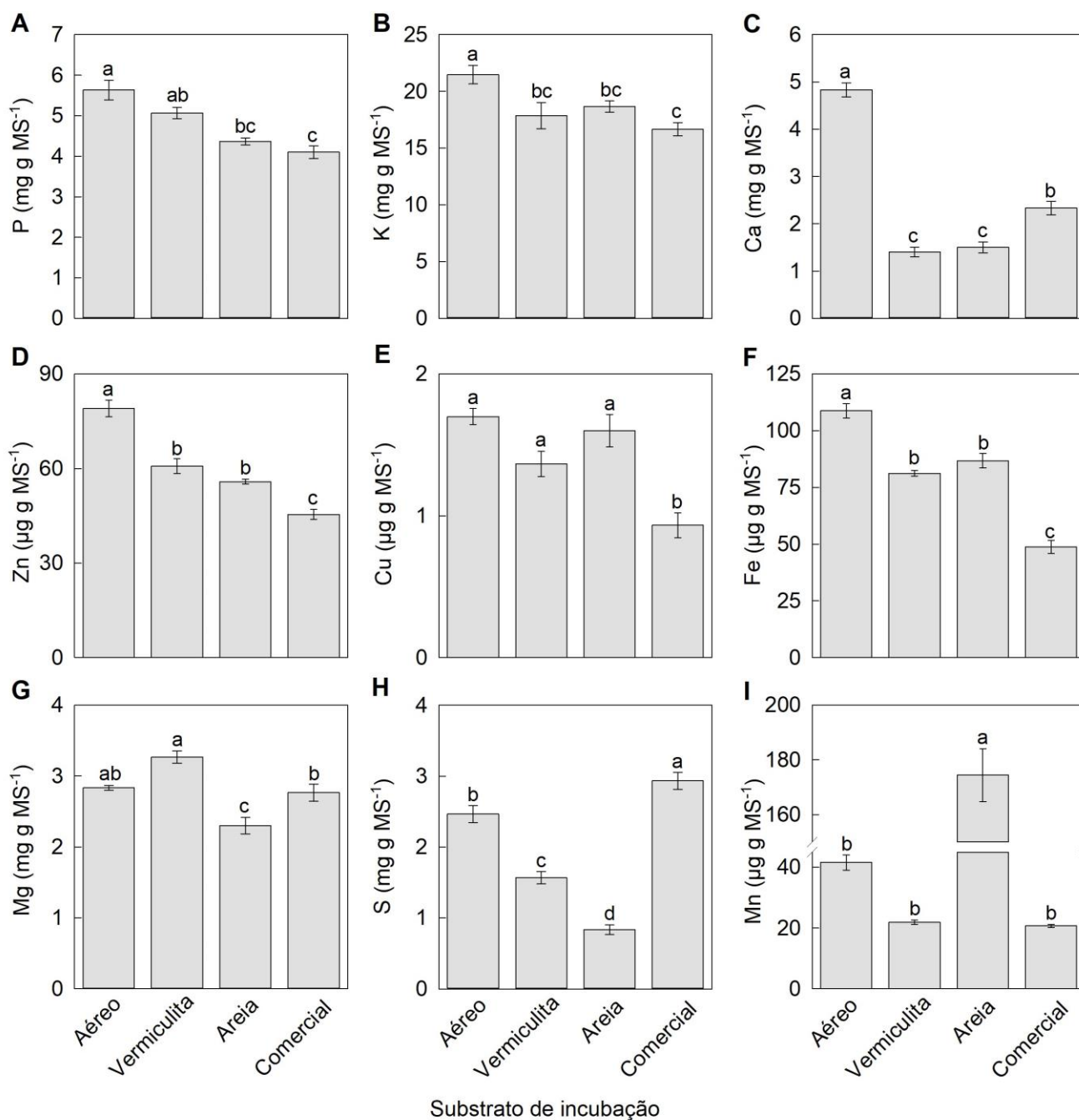


**Figura 3.** Concentrações de carboidratos e aminoácidos nos tecidos dos ginóforos aéreos e em ginóforos incubados em vermiculita, areia e substrato comercial aos 5 e 15 dias e respiração aos 5 dias. **A** Açúcares totais. **B** Glicose. **C** Frutose. **D** Sacarose. **E** Aminoácidos totais. **F** Respiração. Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os meios de incubação aos 5 dias pelo Teste Tukey ( $P < 0,05$ ). Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os meios de incubação aos 15 dias pelo Teste Tukey ( $P < 0,05$ ). Os asteriscos indicam diferenças significativas entre os dias de incubação dentro dos meios de incubação pelo Teste  $t$  ( $P < 0,05$ ). Médias de seis repetições  $\pm$  erro da média.

### *Concentrações de macro e micronutrientes nos ginóforos*

No geral, os resultados mostraram que os ginóforos aéreos exibiram as maiores concentrações de potássio, cálcio, zinco, e ferro, quando comparado com os ginóforos desenvolvidos em areia, vermiculita e substrato comercial (Figura 4). Os ginóforos aéreos exibiram um aumento na concentração de fósforo 22% e 27%, quando comparado aos ginóforos desenvolvidos em areia e substrato comercial, respectivamente (Figura 4A). Além disso, a concentração de potássio aumentou nos ginóforos aéreos em 17%, 13% e 22% quando comparado aos ginóforos desenvolvidos em vermiculita, areia e substrato comercial, respectivamente (Figura 4B). A concentração de cálcio reduziu em 71%, 69% e 52% nos ginóforos desenvolvidos em vermiculita, areia e substrato comercial, respectivamente, em relação aos ginóforos aéreos (Figura 4C). Uma redução de 23%, 29% e 42% na concentração de zinco foi observada nos ginóforos desenvolvidos em vermiculita, areia e comercial, respectivamente, quando comparado aos ginóforos aéreos (Figura 4D). A concentração de cobre aumentou nos ginóforos aéreos (45%) e nos ginóforos desenvolvidos em vermiculita (32%) e areia (42%), quando comparados com os ginóforos desenvolvidos em substrato comercial (Figura 4E). Além disso, a concentração de ferro reduziu em 25%, 20% e 55% nos ginóforos desenvolvidos em vermiculita, areia e substrato comercial, respectivamente, em comparação com os ginóforos aéreos (Figura 4F). A concentração de magnésio dos ginóforos em vermiculita não diferiu significativamente em relação aos ginóforos aéreos (Figura 4G). A concentração de magnésio aumentou nos ginóforos desenvolvidos em vermiculita em 30% e 15% em comparação com os ginóforos desenvolvidos em areia e substrato comercial, respectivamente (Figura 4G). Os ginóforos desenvolvidos em substrato comercial mostraram um aumento na concentração de enxofre, quando comparado com os demais tratamentos (Figura 4H). Observou-se que a concentração de enxofre nos ginóforos desenvolvidos em

substrato comercial aumentou em 16%, 47% e 72%, em relação aos ginóforos aéreos e aos ginóforos desenvolvidos em vermiculita e areia, respectivamente (Figura 4H). Verificou-se que a concentração de manganês foi reduzida em 76%, 87% e 88% nos ginóforos aéreos e nos ginóforos desenvolvidos em vermiculita e substrato comercial, respectivamente, em relação aos ginóforos desenvolvidos em areia (Figura 5I). Em síntese, esses resultados sugerem que a disponibilidade de nutrientes no substrato pode também afetar a concentração de nutrientes nos ginóforos. Além disso, é provável que as concentrações de nutrientes detectadas nos ginóforos aéreos sejam resultado da remobilização dos nutrientes presentes nas folhas para os ginóforos aéreos.

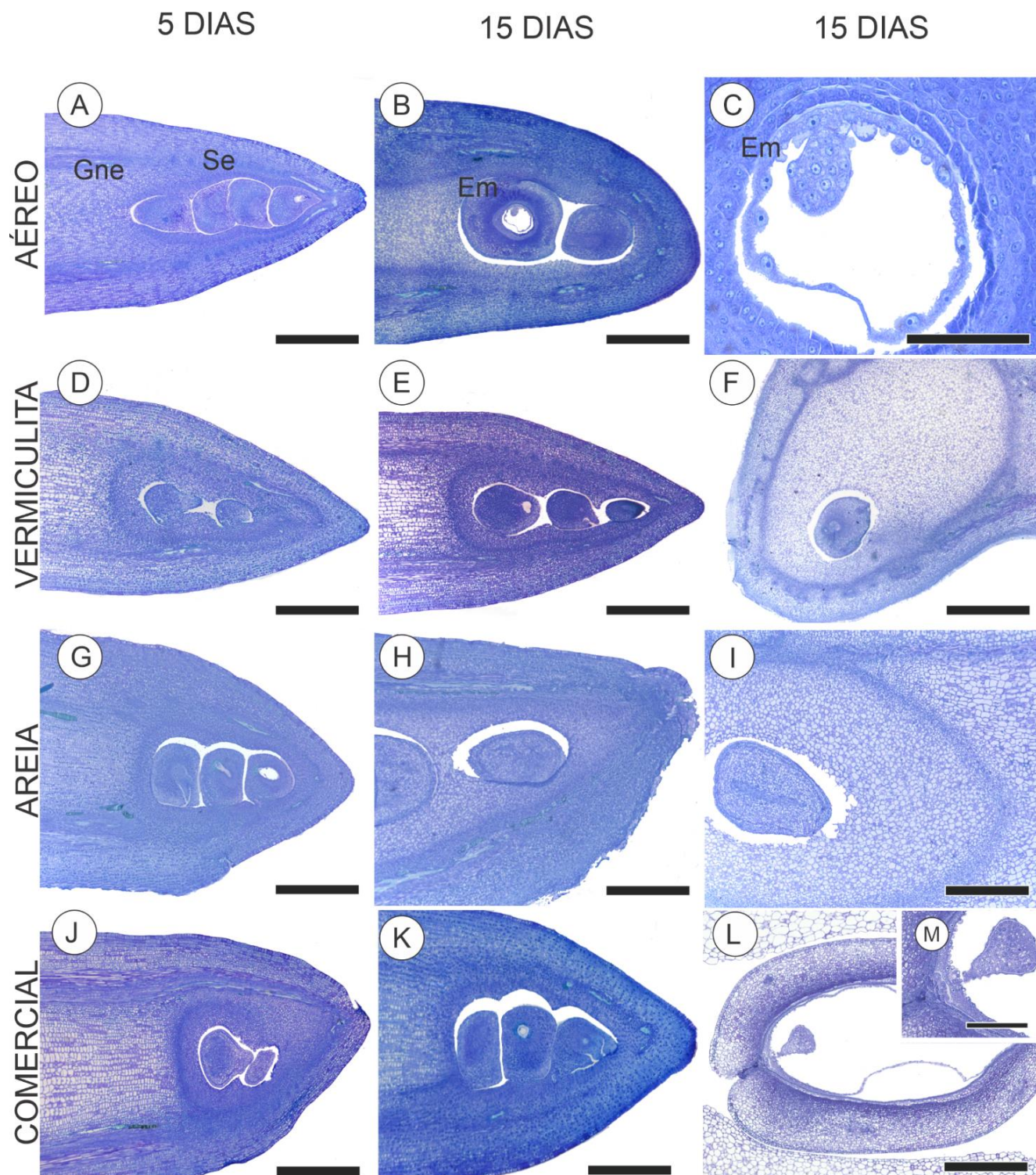


**Figura 4.** Concentrações de macronutrientes e micronutrientes nos tecidos de ginóforos aéreos e em ginóforos incubados em vermiculita, areia e substrato comercial aos 15 dias. **A** Fósforo. **B** Potássio. **C** Cálcio. **D** Magnésio. **E** Enxofre. **F** Zinco. **G** Cobre. **H** Manganês. **I** Ferro. Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os meios de incubação pelo Teste Tukey ( $P < 0,05$ ). Médias de três repetições  $\pm$  erro da média.

#### Anatomia dos ginóforos

Alterações na anatomia dos ginóforos foram observadas durante os períodos de incubação nos diferentes substratos e nos ginóforos aéreos (Figura 5). Ginóforos aéreos aos 5

dias apresentaram em média quatro sementes, enquanto que no período de incubação de 15 dias, apresentaram em média duas sementes (Figura 5A-B). Além disso, no período de incubação de 15 dias foi possível identificar nos ginóforos aéreos a presença do embrião e o endosperma (Figura 5C). Os ginóforos desenvolvidos em vermiculita, no período de incubação de 5 e 15 dias, apresentaram em média de duas a três sementes (Figuras 5A, 5D-E). Entretanto, no período de incubação de 15 dias, não foi possível verificar a formação do embrião nos ginóforos desenvolvidos em vermiculita, uma vez que as sementes já estavam formadas (Figuras 5A, 5E- F). Nos ginóforos desenvolvidos em areia, no período de incubação de 5 e 15 dias, foram observados o aborto dos embriões (Figura 5G-H-I). Os resultados ainda mostraram que os ginóforos desenvolvidos em substrato comercial, no período de incubação de 5 e 15 dias, apresentaram em média de duas a três sementes (Figura 5J-K). No período de incubação de 15 dias em substrato comercial, o embrião diferenciou-se no estágio globular tardio (Figura 5L-M).

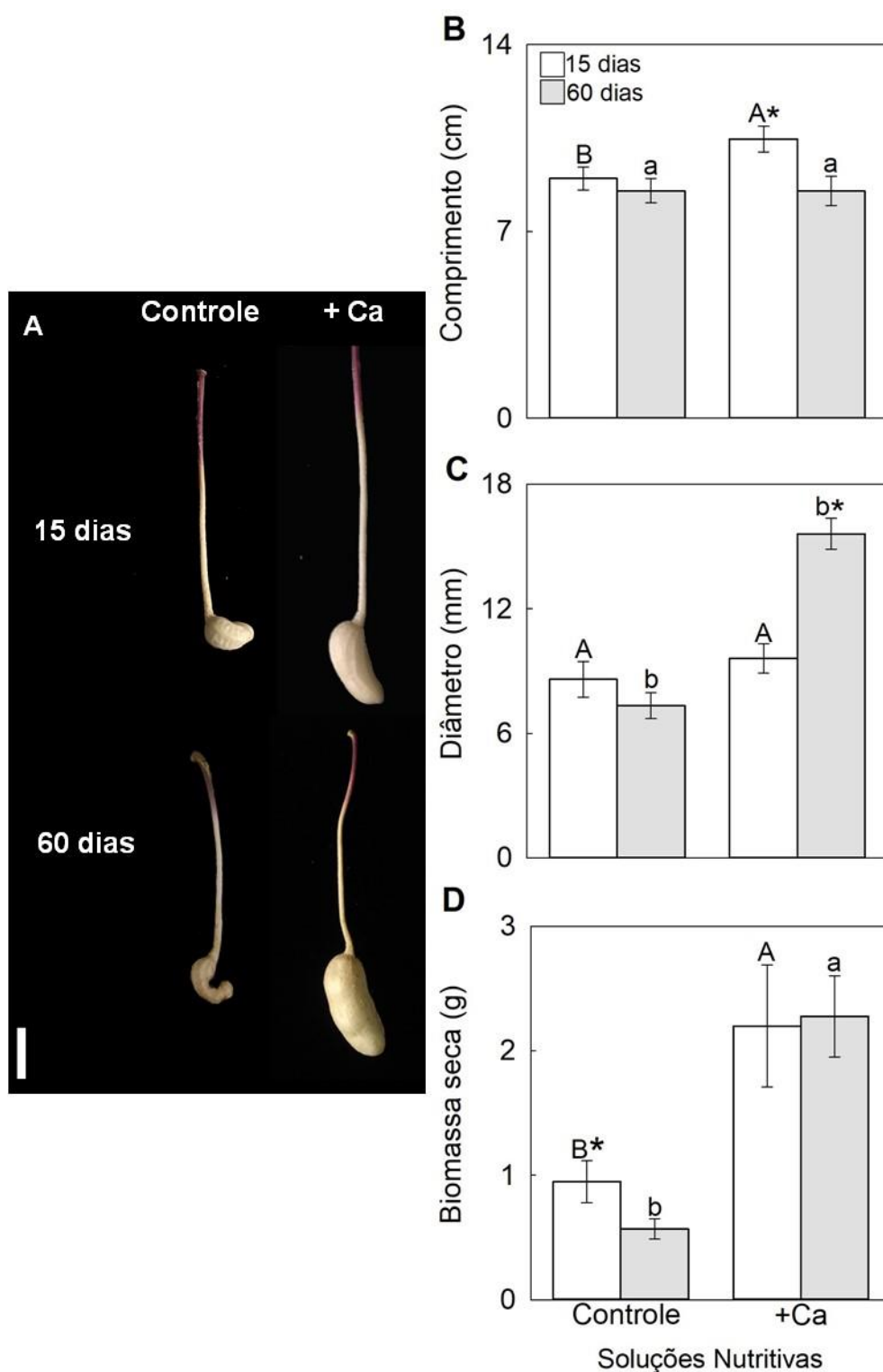


**Figura 5.** Micrografia de luz de cortes longitudinais do desenvolvimento de embriões dos ginóforos aéreos e incubados em vermiculita, areia e substrato comercial aos 5 e 15 dias. **A** Ginóforo aéreo aos 5 dias. **B – C** Ginóforo aéreo aos 15 dias. **D** Ginóforo incubado em vermiculita aos 5 dias. **E – F** Ginóforo incubado em vermiculita aos 15 dias. **G** Ginóforo incubado em areia aos 5 dias. **H** Ginóforo incubado em areia aos 15 dias. **I** Embrião do ginóforo incubado em areia aos 15 dias. **J** Ginóforo incubado em substrato comercial aos 5 dias. **K** Ginóforo incubado em substrato comercial aos 15 dias. **L** Embrião do ginóforo incubado em substrato comercial aos 15 dias. **M** Embrião do ginóforo incubado em substrato comercial aos

15 dias. Gne: ginóforo. Se: semente. Em: embrião. Barras em (A), (D), (C) e (J) = 600  $\mu\text{m}$ ; (B), (E), (H) e (K) = 600  $\mu\text{m}$ ; (C) = 100  $\mu\text{m}$ ; (F) e (I) = 200  $\mu\text{m}$ ; (L) = 200  $\mu\text{m}$ ; (M) = 100  $\mu\text{m}$ .

#### *Efeito do cálcio no desenvolvimento do ginóforo*

A morfologia dos ginóforos foi afetada pelo cálcio (Figura 6). No geral, a solução com cálcio promoveu um aumento no alongamento do ginóforo bem como no diâmetro e biomassa do fruto (Figura 6B-C-D). Nesse contexto, observou-se que no período de incubação de 15 dias, a solução com cálcio promoveu um aumento no alongamento do ginóforo de 14% em comparação com a solução sem cálcio (Figura 6B). Além disso, observou-se que na solução com cálcio o alongamento do ginóforo foi reduzido em 19%, para o período de incubação de 60 dias, em comparação com o período de incubação de 15 dias (Figura 6B). O alongamento do ginóforo para o período de incubação de 60 dias permaneceu inalterado entre os tratamentos (Figura 6B). Do mesmo modo, o diâmetro do ginóforo não foi afetado pelo cálcio para o período de incubação de 15 dias (Figura 6C). Por outro lado, o diâmetro do fruto foi aumentado em 38%, no período de incubação de 60 dias, na solução com cálcio em relação ao controle (solução sem cálcio) (Figura 6C). Ademais, um aumento de 57% e 75% na biomassa seca total foi observada nos períodos de incubação de 15 dias e 60 dias, respectivamente, com a adição de cálcio em comparação com o controle (Figura 6D). Em conjunto, esses resultados indicam que o cálcio pode induzir alterações morfológicas no crescimento e desenvolvimento do ginóforo e fruto do amendoim.



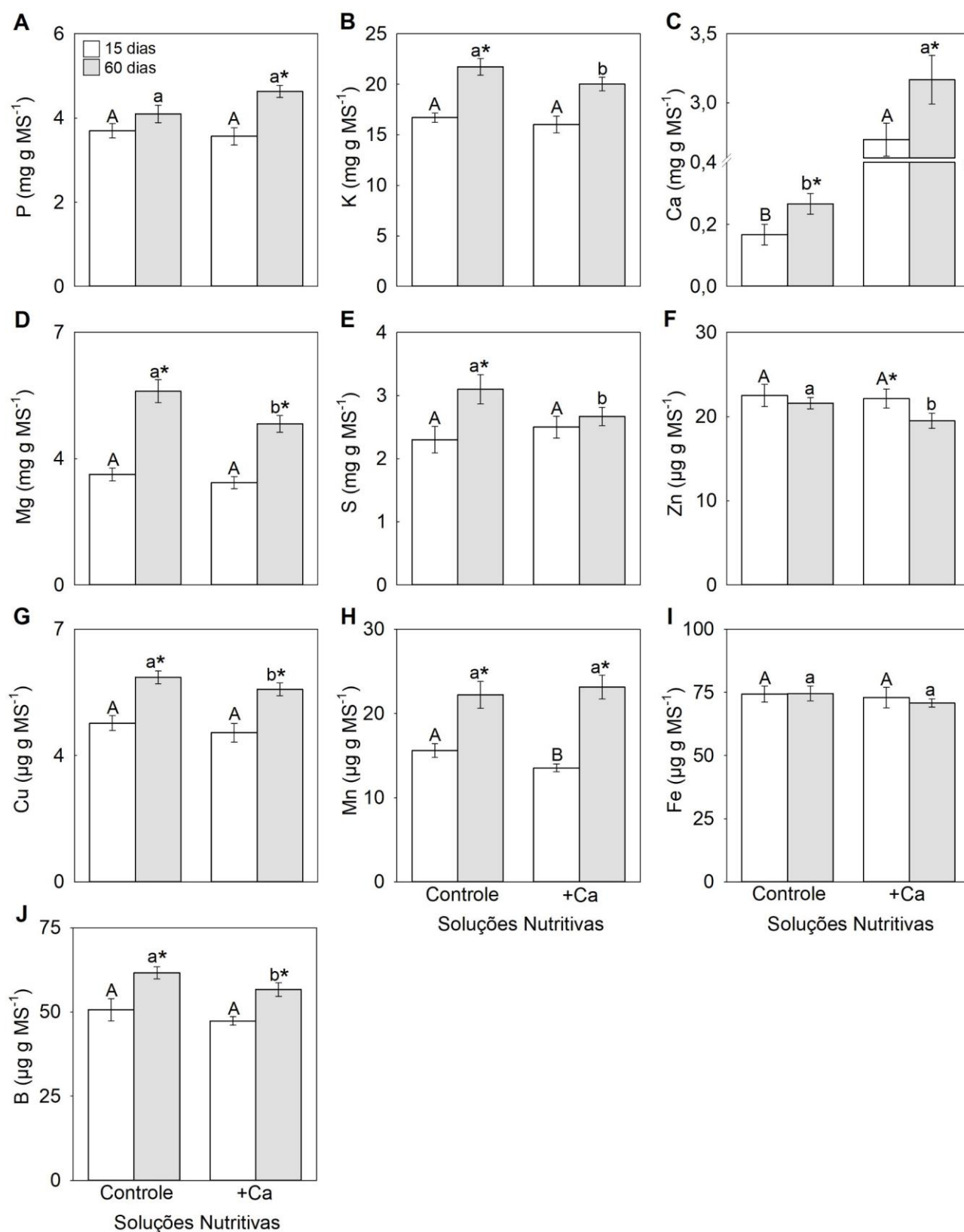
**Figura 6.** Efeito do cálcio no crescimento de ginóforo de amendoim e desenvolvimento do fruto incubados em vermiculita suplementado com cálcio (+Ca) ou não (controle), aos 15 e 60 dias de incubação. **A** Ginóforos de amendoim. **B** Comprimento do ginóforo. **C** Diâmetro de vagem. **D** Biomassa seca do fruto. Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre as soluções nutritivas aos 15 dias de incubação pelo Teste *t* ( $P < 0,05$ ). Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre as soluções nutritivas aos 60 dias de incubação pelo Teste *t* ( $P < 0,05$ ). Os asteriscos indicam diferenças significativas

entre os dias de incubação dentro das soluções nutritivas pelo Teste  $t$  ( $P < 0,05$ ). Médias de dez repetições  $\pm$  erro da média.

#### *Concentrações de macro e micronutrientes nos ginóforos em resposta à nutrição com cálcio*

A concentração de fósforo nos frutos em desenvolvimento permaneceu inalterada para o período de incubação de 15 dias (Figura 7A). Por outro lado, a concentração de fósforo nos frutos aumentou em 23% nos ginóforos tratados com cálcio para o período de incubação de 60 dias em relação ao período de incubação de 15 dias (Figura 7A). Ademais, a concentração de potássio nos frutos em desenvolvimento para o controle e tratamento com cálcio para o período de incubação de 15 dias permaneceu inalterada (Figura 7B). A concentração de potássio no fruto foi aumentada em 20% no controle para o período de incubação de 60 dias em comparação com o período de 15 dias (Figura 7B). O período de incubação de 60 dias promoveu uma redução na concentração de potássio de 8% no tratamento com cálcio em relação ao controle (Figura 7B). O tratamento com cálcio promoveu um aumento na concentração de cálcio de 94% e 92%, nos períodos de incubação de 15 dias e 60 dias, respectivamente, em comparação com o controle (Figura 7C). Além disso, a concentração de cálcio nos frutos aumentou em 37% no controle e 14% no tratamento com cálcio, para no período de incubação de 60 dias, quando comparada o período de incubação de 15 dias (Figura 7C). A concentração de magnésio nos frutos em desenvolvimento permaneceu inalterada para o período de incubação de 15 dias (Figura 7D). Por outro lado, a concentração de magnésio nos frutos reduziu em 17% no tratamento com cálcio em relação ao controle no período de 60 dias de incubação (Figura 7D). Um aumento de 43% e 37% na concentração de magnésio foi observado nos frutos no controle e no tratamento com cálcio, respectivamente, no período de incubação de 60 dias quando comparado com o período de 15 dias (Figura 7D). A concentração de enxofre nos frutos em desenvolvimento mostrou-se constante para o controle e no tratamento com cálcio no período

de incubação de 15 dias (Figura 7E). No entanto, um aumento de 29% na concentração de enxofre nos frutos foi observado no controle para o período de incubação de 60 dias, quando comparada com o período de 15 dias (Figura 7E). Para o período de incubação de 60 dias, a concentração de enxofre nos frutos reduziu em 14% no tratamento com cálcio em relação ao controle (Figura 7E). A concentração de zinco nos frutos em desenvolvimento mostrou-se inalterada para ambas as soluções no período de incubação de 15 dias (Figura 7F). Ademais, uma redução de 10% na concentração de zinco nos frutos foi observada nos frutos tratados com cálcio em comparação com o controle, no período de incubação de 60 dias (Figura 7F). A concentração de zinco nos frutos reduziu em 12% no tratamento com cálcio no período de incubação de 60 dias em relação ao período de 15 dias (Figura 7F). A concentração de cobre no fruto em desenvolvimento não foi alterada pelos tratamentos no período de incubação de 15 dias (Figura 7G). Por outro lado, a concentração de cobre nos frutos aumentou em 18% no controle e em 16% no tratamento com cálcio para o período de incubação de 60 dias, quando comparado com o período de 15 dias (Figura 7 G). Uma redução de 6% na a concentração de cobre foi observada nos frutos tratados com cálcio em comparação com o controle no período de incubação de 60 dias (Figura 7G). Para o período de incubação de 60 dias, a concentração de manganês nos frutos em desenvolvimento permaneceu inalterada entre os tratamentos (Figura 7H). Ademais, o tratamento com cálcio promoveu uma redução de 13% na concentração de manganês nos frutos no período de incubação de 15 dias, quando comparado com o controle (Figura 7H). A concentração de manganês nos frutos aumentou em 30% e 41% no controle e no tratamento com cálcio, respectivamente, no período de incubação de 60 dias, quando comparado com o período de 15 dias (Figura H). A concentração de ferro não foi afetada pelos tratamentos para ambos períodos de incubação (Figura



**Figura 7.** Concentrações de macronutrientes e micronutrientes nos tecidos de ginóforos e frutos incubados em vermiculita suplementada com cálcio ou não (controle), aos 15 e 60 dias de incubação. **A** Fósforo. **B** Potássio. **C** Cálcio. **D** Magnésio. **E** Enxofre. **F** Zinco. **G** Cobre. **H** Manganês. **I** Ferro. **J** Boro. Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre as soluções nutritivas aos 15 dias de incubação pelo Teste *t* ( $P < 0,05$ ). Diferentes letras

minúsculas indicam diferenças significativas entre as soluções nutritivas aos 60 dias de incubação pelo Teste *t* ( $P < 0,05$ ). Os asteriscos indicam diferenças significativas entre os dias de incubação dentro das soluções nutritivas pelo Teste *t* ( $P < 0,05$ ). Médias de dez repetições  $\pm$  erro da média.

7I). A concentração de boro nos frutos em desenvolvimento permaneceu constante entre os tratamentos no período de incubação de 15 dias (Figura 7J). Por outro lado, a concentração de boro aumentou em 18% e 16% no controle e no tratamento com cálcio, respectivamente, no período de incubação de 60 dias comparado com o período de 15 dias (Figura 7J). O tratamento com cálcio reduziu em 8% a concentração de boro no período de incubação de 60 dias em comparação com o controle (Figura 7J).

#### **4 Discussão**

Alterações nos níveis de macro e micronutrientes do solo podem impactar diretamente no crescimento e desenvolvimento das plantas, e consequentemente, resultar em perdas de rendimento (Ahanger et al., 2016; Elbasiouny et al., 2022). No desenvolvimento reprodutivo do amendoim, a falha na penetração do ginóforo no solo ocasiona o aborto da semente (Chen et al., 2013; Kumar et al., 2019). Nesse contexto, para investigar o efeito da nutrição mineral no desenvolvimento do fruto do amendoim, este estudo concentrou-se em analisar as alterações na morfologia, no metabolismo primário e na absorção de minerais pelos ginóforos. Os resultados do presente estudo mostraram que a morfologia dos ginóforos foi alterada pela incubação em vermiculita, areia e substrato comercial e pelos períodos de incubação. Por exemplo, observou-se que os ginóforos desenvolvidos em vermiculita e em substrato comercial exibiram um maior alongamento, no período de incubação de 5 dias, em relação aos ginóforos aéreos e aos ginóforos desenvolvidos na areia (Figura 2B). Por outro lado, para o período de incubação de 15 dias, o alongamento dos ginóforos aéreos foi igual ao alongamento dos ginóforos desenvolvidos em vermiculita e substrato comercial (Figura 2B). O crescimento dos

ginóforos aéreos ocorre em resposta ao estímulo da luz, no qual as células do meristema intercalar, localizadas acima do ovário, continuam a se dividir e alongar (Zamski et al., 1976).

Com a penetração do ginóforo no solo ocorrem alterações na biossíntese e sinalização de hormônios (Zhu et al., 2014). A auxina é um hormônio envolvido em diversos processos biológicos que ocorrem durante o ciclo de vida da planta (Wang & Irving 2011). No desenvolvimento das sementes, a auxina regula o desenvolvimento do embrião, do endosperma e do pericarpo, após a fertilização (Cao et al., 2020). No amendoim, a auxina desempenha um importante papel no desenvolvimento inicial do fruto (Moctezuma 1999; Zhu et al., 2014). Em ginóforos subterrâneos, a auxina aumentou o número e volume de células no ápice do ginóforo (Moctezuma 1999). Os resultados do presente estudo revelaram que os diâmetros dos ginóforos desenvolvidos em substrato comercial aumentaram no período de incubação de 15 dias (Figura 2C). Essas alterações no aumento no diâmetro dos ginóforos podem ter ocorrido devido à elevada concentração de auxina no embrião, que promove o crescimento desigual entre os lados superior e inferior do ovário (Zamski et al., 1976).

O estabelecimento de frutos e sementes é limitado por açúcares (Ruan et al., 2012). No desenvolvimento das sementes, os açúcares também atuam como sinalizadores, indicando a necessidade de mudança no ciclo celular, afetando a ciclina D e favorecendo a divisão celular (Souza et al., 2018). A sacarose é o principal produto da fotossíntese exportado das folhas para as regiões de demanda de energia (Li et al., 2021; Yoon et al., 2021). Nas sementes em desenvolvimento, a sacarose é importada e deve ser hidrolisada em frutose e glicose (Weber et al., 1997; Pattee et al., 1981). Além disso, sabe-se que as concentrações de glicose podem atuar como um sinal, reprimindo genes de morte celular programada, além de promover a divisão celular, levando à formação de sementes e frutos (Ruan et al., 2012). Neste contexto, os resultados do presente estudo mostraram uma menor concentração de glicose em ginóforos aéreos no período de incubação de 15 dias (Figura 3B). Por outro lado, as maiores concentrações

de glicose foram observadas em ginóforos desenvolvidos em vermiculita e em substrato comercial no período de incubação de 15 dias (Figura 3B). Esses resultados parecem indicar que a maior concentração de glicose nos ginóforos incubados em vermiculita e substrato comercial promoveu o desenvolvimento das sementes de amendoim. É interessante destacar, que a vermiculita e o substrato comercial também promoveram as maiores concentrações de açúcares totais nos ginóforos no período de incubação de 15 dias, assim como o desenvolvimento da semente (Figura 5). Diante disso, é razoável supor, que as alterações nas concentrações dos açúcares redutores modulam o desenvolvimento da semente do amendoim. No início do desenvolvimento de estruturas de órgãos reprodutivos há maior concentração de açúcares redutores e menor de sacarose (Koch, 2004). Esta proporção se inverte no final do desenvolvimento, especialmente em sementes (Koch, 2004). Nesse sentido, os resultados do presente estudo revelaram uma redução na concentração de sacarose nos ginóforos em substrato comercial, no período de incubação de 15 dias em relação ao período de 5 dias (Figura 3D). Neste contexto, Gupta et al., (2021) observaram um aumento significativo no tamanho do fruto, durante o desenvolvimento dos embriões pequenos para o crescimento da semente, em função do aumento da biossíntese da parede celular a partir do metabolismo de carboidratos.

O desenvolvimento das sementes envolve a conversão de açúcares e aminoácidos em compostos de armazenamento (Schwender et al., 2006). Nas sementes de colza (*Brassica napus*), o embrião em desenvolvimento sintetiza triacilgliceróis e proteínas a partir de açúcares e aminoácidos retirados do endosperma (Schwender et al., 2006). Neste estudo, os resultados mostraram que a concentração de aminoácidos foi aumentada nos ginóforos desenvolvidos em vermiculita e areia, nos períodos de incubação 5 dias e 15 dias, respectivamente (Figura 3E). Ademais, foi observado em ginóforos aéreos a maior taxa respiratória, no período de incubação 5 dias (Figura 3F). Sabe-se que os embriões em desenvolvimento são heterotróficos e dependem da respiração mitocondrial (Rolletschek et al., 2003). Além disso, aminoácidos podem ser

utilizados como substratos respiratórios alternativos (Hildebrandt et al., 2015). Assim, parece possível que os açúcares e aminoácidos podem ter fornecido carbono a biossíntese de composto de armazenamento e ao metabolismo respiratório.

Poucos estudos exploraram o padrão de concentração dos minerais nos ginóforos durante os estágios iniciais de desenvolvimento da semente do amendoim, principalmente no que se refere aos níveis de minerais no solo e de como estes estão relacionados ao aborto da semente. Neste contexto, os resultados revelaram um aumento nas concentrações de P, K, Ca, Zn, Cu e Fe nos ginóforos aéreos no período de incubação de 15 dias (Figura 4A-B-C-D-E-F). Além disso, é interessante destacar, que a vermiculita e o substrato comercial foram os que apresentaram os maiores níveis de K e P, respectivamente (Tabela 1). O potássio está envolvido em diversas respostas fisiológicas, como por exemplo, na alocação de açúcar e carbono (Martineau et al., 2017). No presente estudo as maiores concentrações de açúcares totais e aminoácidos foram observados nos ginóforos desenvolvidos em vermiculita aos 5 dias de incubação (Figura 3A-E). Contudo, é importante considerar que a absorção do potássio no solo pode variar conforme o teor de umidade, nível de oxigênio e temperatura, além da presença de íons concorrentes (Cole et al., 2016). O substrato comercial apresentou as maiores concentrações de P, K e Ca, mas os ginóforos desenvolvidos em substrato comercial apresentaram reduções nas concentrações de P e K, bem como Zn, Cu, Fe e Mn em comparação com os ginóforos aéreos (Tabela 1; Figura 4A-B-D-E-F-I). A maior concentração de manganês foi observada nos ginóforos desenvolvidos em areia em relação aos demais tratamentos (Figura 4I). A disponibilidade de ferro, manganês e zinco para as plantas é condicionada pelo pH do solo (Cole et al., 2016). No presente trabalho, a areia apresentou valor de pH de 4,7 e o substrato comercial pH de 6,3 (Tabela 1). Nesse sentido, possivelmente, as concentrações de minerais nos tecidos dos ginóforos podem ter sido influenciadas pelo pH dos meios de incubação. Além disso, é provável que as maiores concentrações de K, Ca, Zn e Fe nos ginóforos aéreos em

relação aos demais tratamentos estão ligadas à remobilização desses minerais da planta para os ginóforos, e essa resposta pode estar associada ao processo de abortamento da semente. Consistente com esta visão, um experimento com cultivares de amendoim caracterizou o acúmulo de macronutrientes nas folhas e nas estruturas reprodutivas (flor + ginóforo) (Crusciol et al., 2021). O estudo mostrou que o maior acúmulo de N, P, K, Mg e S ocorreram primeiro nas folhas (80-85 dias), enquanto que nas estruturas reprodutivas o maior acúmulo ocorreu entre 93-105 dias após a emergência (Crusciol et al., 2021). No presente estudo, a maior concentração de cálcio foi observada nos ginóforos aéreos em relação aos demais tratamentos (Figura 4C). Esse fato é especialmente interessante, uma vez que é comum a fertilização com cálcio na zona de crescimento da vagem no estágio de pico da floração, para garantir sua disponibilidade para o desenvolvimento e formação do envoltório das sementes (Janila et al., 2013). Assim, é importante salientar que o mecanismo de transporte do cálcio para ginóforo aéreo e como a maior concentração de cálcio pode estar relacionada ao aborto do embrião em desenvolvimento ainda não foram relatados.

A formação de sementes é um processo fundamental na reprodução e dispersão das plantas (Eroglu et al., 2017). Neste estudo, dois estágios de desenvolvimento do ginóforo foram usados para estudar o desenvolvimento inicial do embrião (Figura 5). Não foram observadas diferenças na anatomia dos ginóforos no período de incubação de 5 dias, exceto nos ginóforos aéreos e ginóforos desenvolvidos em areia (Figura 5A-D-G-J). Nos ginóforos aéreos, no período de incubação de 15 dias, foi observado um desenvolvimento anormal do embrião, o que indica a formação de um embrião com baixa viabilidade, visto que resulta em uma semente abortada (Figura 2A, 5C). Li et al., (2022) observaram que em mutantes de *Arabidopsis*, o desenvolvimento dos embriões parou nos estágios globulares anormais, o que interrompeu a diferenciação do embrião. Neste estudo, nos ginóforos desenvolvidos em vermiculita houve o desenvolvimento da semente no período de incubação de 15 dias (Figura 2A, 5E-F). Por outro

lado, nos ginóforos desenvolvidos em areia, nos períodos de incubação de 5 e 15 dias, foi observado o aborto do embrião e, conseqüentemente, não houve formação da semente (Figura 5G-H-I). Nos ginóforos desenvolvidos em substrato comercial foi observado embriões com o desenvolvimento normal, em estágio globular (Figura 5L-M). Consistente com esses resultados, ginóforos com 9 dias após a penetração no solo apresentaram embriões em estágio globular (Zhang et al., 2016). Além disso, alterações na anatomia de embriões de ginóforos aéreos e de vagens subterrâneas também foram relatados. Chen et al., (2013) e Zhu et al., (2014) observaram que em ginóforos aéreos o crescimento do embrião cessou nos estágios iniciais e posteriormente abortou. Em conjunto, as observações do presente estudo, sugerem que o aborto do embrião e da semente do amendoim além de ser influenciado pela falha da penetração do ginóforo no solo, possivelmente, também é influenciado pelos níveis de minerais do solo (Figuras 2, 4, 5).

O cálcio é um macronutriente presente no solo que desempenha um papel proeminente em muitos processos bioquímicos e metabólicos das plantas (Kadirimangalam et al., 2022). Durante o desenvolvimento das vagens de amendoim o suprimento insuficiente de cálcio pode resultar em um grande número de vagens vazias, vagens subdesenvolvidas e baixo rendimento final (Hawkesford et al., 2012). Neste estudo, a aplicação do cálcio durante o desenvolvimento da semente e vagem, teve efeito direto no crescimento e nas concentrações de nutrientes no fruto (Figuras 6, 7). A aplicação de cálcio promoveu maior alongamento do ginóforo, no período de incubação de 15 dias, além de maior diâmetro e biomassa, no período de incubação de 60 dias (Figura 6B-C-D). Esta descoberta é consistente com relatos anteriores de que o fornecimento de cálcio ( $5 \mu\text{M}$ ) na zona de formação da vagem aumentou a produção de matéria seca de vagens e sementes (Zharare & Asher 2009). Além disso, os resultados do presente estudo mostraram que o fornecimento de cálcio aumentou a concentração de Ca nos frutos em relação ao controle, para ambos os períodos de incubação (Figura 7C). Consistente com esta

observação, o tratamento com cálcio na zona de formação das vagens promoveu um aumento na concentração de cálcio nas vagens e sementes, sendo a maior concentração nas vagens do que nas sementes (Zharare & Asher 2009). Contudo, é importante considerar que no presente estudo, a concentração de Ca presente na vermiculita era de 0,82 (cmol<sub>c</sub>/dm<sup>-3</sup>) e que no tratamento controle a concentração final de Ca, no período de incubação de 60 dias, foi superior a inicial. Por outro lado, com a aplicação de cálcio, no período de 60 dias de incubação, as concentrações de K, Mg, S, Zn, Cu e B no fruto foram reduzidas (Figura 7B-D-E-F-G-J). Esta observação está um pouco em desacordo com estudos anteriores que mostraram que sob deficiência de cálcio o transporte e a homeostase dos íons de Zn, Na, K e Mg foram afetados, o que dificultou a absorção desses nutrientes (Yang et al., 2020; Chen et al., 2022). Assim, os resultados do presente estudo além de evidenciar o papel do cálcio no desenvolvimento da vagem e da semente do amendoim, sugere também que os níveis de cálcio podem interferir na absorção de outros íons.

## 5 Conclusões

A disponibilidade dos nutrientes dos meios de incubação (vermiculita, areia e substrato comercial) dos ginóforos influenciou o crescimento dos ginóforos e as concentrações de minerais nos ginóforos. Os níveis metabólicos de açúcares parecem estar envolvidos no desenvolvimento da semente do amendoim cultivado em vermiculita e substrato comercial. A morfologia dos embriões do amendoim no início do desenvolvimento foi alterada nos ginóforos aéreos e nos ginóforos desenvolvidos em areia, resultando no aborto do embrião e da semente. Adicionalmente, as maiores concentrações de potássio, fósforo e cálcio no substrato comercial contribuíram para o desenvolvimento do fruto. Enquanto que as menores concentrações dos macronutrientes bem como pH ácido na areia resultaram no aborto da semente. Por outro lado, o fornecimento de Ca à vermiculita foi capaz estimular o desenvolvimento da semente e vagem.

Além disso, a concentração de cálcio no fruto também foi aumentada pelo tratamento com Ca, mas as concentrações de K, Mg, S, Zn, Cu e B foram reduzidas.

## 7 Referências

- Aguirre, M., Kiegle, E., Leo, G., & Ezquer, I. (2018). Carbohydrate reserves and seed development: An overview. *Plant reproduction*, 31, 263-290.
- Ahanger, M. A., Morad-Talab, N., Abd-Allah, E. F., Ahmad, P., & Hajiboland, R. (2016). Plant growth under drought stress: Significance of mineral nutrients. *Water stress and crop plants: a sustainable approach*, 2, 649-668.
- Bewley, J. D., Bradford, K., & Hilhorst, H. (2012). *Seeds: physiology of development, germination and dormancy*. Springer Science & Business Media.
- Chen, H., Yang, Q., Fu, H., Chen, K., Zhao, S., Zhang, C., Cai, T., Wang, L., Lu, W., Dang, H., Gao, M., Li, H., Yuan, X., Varshney, R. K. & Zhuang, W. (2022). Identification of key gene networks and deciphering transcriptional regulators associated with peanut embryo abortion mediated by calcium deficiency. *Frontiers in Plant Science*, 13, 814015.
- Chen, H., Zhang, C., Cai, T. C., Deng, Y., Zhou, S., Zheng, Y., Ma, S., Tang, R., Varshney, R. K., Zhuang, W. (2016). Identification of low Ca<sup>2+</sup> stress-induced embryo apoptosis response genes in *Arachis hypogaea* L. by SSH-associated library lift (SSHaLL). *Plant Biotechnology Journal*, 14, 682-698.
- Chen, H., Zhang, C., Cai, T. C., Deng, Y., Zhou, S., Zheng, Y., Zheng Y., Ma, S., Tang, R., Varshney, R. K., & Zhuang, W. (2016). Identification of low Ca<sup>2+</sup> stress-induced embryo apoptosis response genes in *Arachis hypogaea* L. by SSH-associated library lift (SSHaLL). *Plant Biotechnology Journal*, 14, 682-698.
- Chen, X., Zhu, W., Azam, S., Li, H., Zhu, F., Li, H., Hong, Y., Liu, H., Zhang, E., Wu, H., Yu, S., Zhou, G., Li, S., Zhong, N., Wen, S., Li, X., Knapp, S. J., Ozias-Akins, P., Varshney, R. K., & Liang, X. (2013). Deep sequencing analysis of the transcriptomes of peanut aerial and subterranean young pods identifies candidate genes related to early embryo abortion. *Plant Biotechnology Journal*, 11, 115-127.
- Cole, J. C., Smith, M. W., Penn, C. J., Cheary, B. S., & Conaghan, K. J. (2016). Nitrogen, phosphorus, calcium, and magnesium applied individually or as a slow release or controlled release fertilizer increase growth and yield and affect macronutrient and micronutrient concentration and content of field-grown tomato plants. *Scientia Horticulturae*, 211, 420-430.
- Crang, R., Lyons-Sobaski, S., & Wise, R. (2018). *Plant anatomy: a concept-based approach to the structure of seed plants*. Springer.
- Cross, J. M., von Korff, M., Altmann, T., Bartzetko, L., Sulpice, R., Gibon, Y., P, N., & Stitt, M. (2006). Variation of enzyme activities and metabolite levels in 24 *Arabidopsis* accessions growing in carbon-limited conditions. *Plant Physiology*, 142, 1574-1588.
- Crusciol, C. A. C., Portugal, J. R., Bossolani, J. W., Moretti, L. G., Fernandes, A. M., Garcia, J. L., Garcia, G. L. B., Cristiane Pilon, C., Cantarella, H. (2021). Dynamics of macronutrient uptake and removal by modern peanut cultivars. *Plants*, 10, 2167.

- Elbasiouny, H., El-Ramady, H., Elbehiry, F., Rajput, V. D., Minkina, T., & Mandzhieva, S. (2022). Plant nutrition under climate change and soil carbon sequestration. *Sustainability*, 14, 914.
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Manual de métodos de análise de solo. 2.ed. Rio de Janeiro: Embrapa, 1997.
- Eroglu, S., Giehl, R. F., Meier, B., Takahashi, M., Terada, Y., Ignatyev, K., Andresen, E., Küpper, H., Peiter, E., Von Wiren, N. (2017). Metal tolerance protein 8 mediates manganese homeostasis and iron reallocation during seed development and germination. *Plant Physiology*, 174, 1633-1647.
- Ferreira, D. F. (1983). Sisvar: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. *Revista Brasileira de Biometria*, v. 37, n. 4. dec. ISSN, 823(2019), 529-535.
- Foloni, J. S. S., de Moraes Barbosa, A., Catuchi, T. A., Calonego, J. C., Tiritan, C. S., Dominato, J. C., & Creste, J. E. (2016). Efeitos da gessagem e da adubação boratada sobre os componentes de produção da cultura do amendoim. *Scientia Agraria Paranaensis*, 202-208.
- Gibon, Y., Usadel, B., Blaesing, O. E., Kamlage, B., Hoehne, M., Trethewey, R., & Stitt, M. (2006). Integration of metabolite with transcript and enzyme activity profiling during diurnal cycles in *Arabidopsis* rosettes. *Genome Biology*, 7, 1-23.
- Gupta, K., Gupta, S., Faigenboim-Doron, A., Patil, A. S., Levy, Y., Carrus, S. C., & Hovav, R. (2021). Deep transcriptomic study reveals the role of cell wall biosynthesis and organization networks in the developing shell of peanut pod. *BMC Plant Biology*, 21, 1-17.
- Hawkesford, M., Horst, W., Kichey, T., Lambers, H., Schjoerring, J., Møller, I. S., & White, P. (2012). Functions of macronutrients. In *Marschner's mineral nutrition of higher plants* (pp. 135-189). Academic press.
- Hildebrandt, T. M., Nesi, A. N., Araújo, W. L., & Braun, H. P. (2015). Amino acid catabolism in plants. *Molecular plant*, 8, 1563-1579.
- Hocking, B., Tyerman, S. D., Burton, R. A., & Gilliham, M. (2016). Fruit calcium: transport and physiology. *Frontiers in Plant Science*, 7, 569.
- Jain, M., Pathak, B. P., Harmon, A. C., Tillman, B. L., & Gallo, M. (2011). Calcium dependent protein kinase (CDPK) expression during fruit development in cultivated peanut (*Arachis hypogaea*) under Ca<sup>2+</sup>-sufficient and-deficient growth regimens. *Journal of plant physiology*, 168, 2272-2277.
- Janila, P., Nigam, S. N., Pandey, M. K., Nagesh, P., & Varshney, R. K. (2013). Groundnut improvement: use of genetic and genomic tools. *Frontiers in Plant Science*, 4, 23.
- Jiang, Z., Watanabe, C. K., Miyagi, A., Kawai-Yamada, M., Terashima, I., & Noguchi, K. (2019). Mitochondrial AOX supports redox balance of photosynthetic electron transport, primary metabolite balance, and growth in *Arabidopsis thaliana* under high light. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 3067.
- Johansen, D. A. (1940). *Plant microtechnique*. Plant Microtechnique.
- Kadirimangalam, SR, Sawargaonkar, G., & Choudhari, P. (2022). Morphological and molecular insights of calcium in peanut pod development. *Journal of Agriculture and Food Research*, 9, 100320.

- Kamara, E. G., Olympio, N. S., Asibuo, J. Y., Kabbia, M. K., Yila, K. M., & Conteh, A. (2017). Effect of calcium and phosphorus fertilizer on seed yield and nutritional quality of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Intl J. Agric. Forest*, 6, 129-133.
- Koch, K. (2004). Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development. *Current opinion in plant biology*, 7, 235-246.
- Kumar, R., Pandey, M. K., Roychoudhry, S., Nayyar, H., Kepinski, S., & Varshney, R. K. (2019). Peg biology: deciphering the molecular regulations involved during peanut peg development. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1289.
- Le, B. H., Wagmaister, J. A., Kawashima, T., Bui, A. Q., Harada, J. J., & Goldberg, R. B. (2007). Using genomics to study legume seed development. *Plant physiology*, 144, 562-574.
- Lee Jr, T. A., Ketring, D. L., & Powell, R. D. (1972). Flowering and growth response of peanut plants (*Arachis hypogaea* L. var. Starr) at two levels of relative humidity. *Plant Physiology*, 49, 190-193.
- Li, C., Hu, F., Chen, H., & Zhao, J. (2022). Transcriptome characteristics during cell wall formation of endosperm cellularization and embryo differentiation in Arabidopsis. *Frontiers in Plant Science*, 13, 998664.
- Li, W.; Huang, L.; Liu, N.; Pandey, M. K.; Chen, Y.; Cheng, L.; Guo, J.; Yu, B.; Luo, H.; Zhou, X.; Huai, D.; Chen, W.; Yan, L.; Wang, X.; Lei, Y.; Varshney, R. K.; Liao, B.; Jiang, H. (2021). Key regulators of sucrose metabolism identified through comprehensive comparative transcriptome analysis in peanuts. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 7266.
- Liu, H., Liang, X., Lu, Q., Li, H., Liu, H., Li, S., Varshney, R., Hong, Y., & Chen, X. (2020). Global transcriptome analysis of subterranean pod and seed in peanut (*Arachis hypogaea* L.) unravels the complexity of fruit development under dark condition. *Scientific Reports*, 10, 1-12.
- Martineau, E., Domec, J. C., Bosc, A., Dannoura, M., Gibon, Y., Bénard, C., & Jordan-Meille, L. (2017). The role of potassium on maize leaf carbon exportation under drought condition. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39, 1-13.
- Martínez-Ballesta, M. D. C., Egea-Gilabert, C., Conesa, E., Ochoa, J., Vicente, M. J., Franco, J. A., Bañón, S., Martínez, J. J. & Fernández, J. A. (2020). The importance of ion homeostasis and nutrient status in seed development and germination. *Agronomy*, 10, 504.
- Mishra, B. S., Sharma, M., & Laxmi, A. (2022). Role of sugar and auxin crosstalk in plant growth and development. *Physiologia plantarum*, 174, e13546.
- Ntare, B. R., Diallo, A. T., Ndjeunga, J., & Waliyar, F. (2008). Groundnut seed production manual.
- Pattee, H. E., Young, C. T., & Giesbrecht, F. G. (1981). Seed size and storage effects on carbohydrates of peanuts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 29, 800-802.
- Periasamy, K., & Sampooram, C. (1984). The morphology and anatomy of ovule and fruit development in *Arachis hypogaea* L. *Annals of Botany*, 53, 399-412.
- Perkin, E. (1993). ICP-OES Perkin Elmer Optima 3000 DV Hardware Guide. Perkin Elmer: Norwalk, Connecticut.

- Rolletschek, H., Weber, H., & Borisjuk, L. (2003). Energy status and its control on embryogenesis of legumes. Embryo photosynthesis contributes to oxygen supply and is coupled to biosynthetic fluxes. *Plant Physiology*, 132, 1196-1206.
- Ruan, Y. L., Patrick, J. W., Bouzayen, M., Osorio, S., & Fernie, A. R. (2012). Molecular regulation of seed and fruit set. *Trends in Plant Science*, 17, 656-665.
- Schwender, J., Shachar-Hill, Y., & Ohlrogge, J. B. (2006). Mitochondrial metabolism in developing embryos of *Brassica napus*. *Journal of Biological Chemistry*, 281, 34040-34047.
- Souza, G. A., dos Santos Dias, D. C. F., Pimenta, T. M., Almeida, A. L., de Toledo Picoli, E. A., de Pádua Alvarenga, A., & da Silva, J. C. F. (2018). Sugar metabolism and developmental stages of rubber tree (*Hevea brasiliensis* L.) seeds. *Physiologia Plantarum*, 162, 495-505.
- USDA - United States Department of Agriculture. Available online: [https://ipad.fas.usda.gov/cropexplorer/cropview/commodityView.aspx?startrow=1&cropid=2221000&sel\\_year=2020&rankby=Production](https://ipad.fas.usda.gov/cropexplorer/cropview/commodityView.aspx?startrow=1&cropid=2221000&sel_year=2020&rankby=Production) (accessed on 19 February 2024)
- Wang, X., Liu, Y., Huai, D., Chen, Y., Jiang, Y., Ding, Y., Kang, Y., Wang, Z., Yan, L., Jiang, H., Lei, Y., & Liao, B. (2021). Genome-wide identification of peanut PIF family genes and their potential roles in early pod development. *Gene*, 781, 145539.
- Weber, H., Borisjuk, L., & Wobus, U. (1997). Sugar import and metabolism during seed development. *Trends in Plant Science*, 2, 169-174.
- Xia, H.; Zhao, C.; Hou, L.; Li, A.; Zhao, S.; Bi, Y.; An, J.; Zhao, Y.; Wan, S.; Wang, X. Transcriptome profiling of peanut gynophores revealed global reprogramming of gene expression during early pod development in darkness. *BMC genomics*, 14, 1-12.
- Xu, Z., Xu, L., & Hu, X. (2022). Genomic analysis of sugar transporter genes in peanut (*Arachis hypogaea* L.): Characteristic, evolution and expression profiles during development and stress. *Oil Crop Science*.
- Yang, S., Li, L., Zhang, J., Geng, Y., Guo, F., Wang, J., Meng, J., Sui, N., Wan, S., & Li, X. (2017). Transcriptome and differential expression profiling analysis of the mechanism of Ca<sup>2+</sup> regulation in peanut (*Arachis hypogaea* L.) pod development. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1609.
- Yang, S.; Wang, J.; Tang, Z.; Guo, F.; Zhang, Y.; Zhang, J.; Meng, J.; Zheng, L.; Wan, S.; Li, X. Transcriptome of peanut kernel and shell reveals the mechanism of calcium on peanut pod development. *Scientific reports*, 10, 15723.
- Yoon, J., Cho, L. H., Tun, W., Jeon, J. S., & An, G. (2021). Sucrose signaling in higher plants. *Plant Science*, 302, 110703.
- Zhang, Y., Wang, P., Xia, H., Zhao, C., Hou, L., Li, C., Gao, C., Zhao, S., & Wang, X. (2016). Comparative transcriptome analysis of basal and zygote-located tip regions of peanut ovaries provides insight into the mechanism of light regulation in peanut embryo and pod development. *BMC Genomics*, 17, 1-13.
- Zharare, G. E., Blamey, F. P. C., & Asher, C. J. (2009). Calcium nutrition of peanut grown in solution culture. II. Pod-zone and tissue calcium requirements for fruiting of a virginia and a spanish peanut. *Journal of Plant Nutrition*, 32, 1843-1860.

Zhu, W., Chen, X., Li, H., Zhu, F., Hong, Y., Varshney, R. K., & Liang, X. (2014). Comparative transcriptome analysis of aerial and subterranean pods development provides insights into seed abortion in peanut. *Plant Molecular Biology*, 85, 395-409.

## CONCLUSÕES GERAIS

Compreender como a profundidade de plantio e níveis de nutrientes atuam sobre o crescimento e desenvolvimento das plantas é importante, pois estes fatores condicionam a produção dos sistemas agrícolas. Este trabalho procurou elucidar as relações entre o etileno e a profundidade de plantio do amendoim na germinação de sementes bem como no crescimento da plântula até o completo estabelecimento. O etileno mostrou-se essencial durante a germinação, sendo sua biossíntese nas plântulas de amendoim afetada em resposta à profundidade de plantio. Altos níveis de etileno na semeadura superficial reduziram o crescimento das plântulas comprometendo sua sobrevivência. A diminuição dos níveis de etileno produzidos pelas plântulas em profundidades de plantio maiores (10-15 cm) afeta o desenvolvimento inicial do amendoim, mas as plantas progrediram para o desenvolvimento reprodutivo. Nesse sentido, destaca-se a capacidade de adaptação das plantas de amendoim às condições de plantio em profundidades maiores. As plântulas de amendoim mantêm um equilíbrio funcional entre a biossíntese de etileno e o crescimento da parte aérea e da raiz em resposta a profundidade de plantio de 2,5 e 5,0 cm.

As sementes constituem o destino final dos nutrientes no ciclo de vida das plantas (Martínez-Ballesta et al., 2020). Nesse sentido, a compreensão dos fatores que causam o aborto de embriões em sementes em resposta à nutrição mineral é fundamental. Em geral, o desenvolvimento do ginóforo, vagem e semente do amendoim é influenciado pela disponibilidade dos nutrientes dos meios de incubação (vermiculita, areia e substrato comercial). Em frutos desenvolvidos em vermiculita, o tratamento com Ca pode promover a formação da semente e vagem do amendoim, destacando o papel do cálcio na regulação da formação do fruto subterrâneo.