



UNIVERSIDADE PARANAENSE – UNIPAR

Recredenciada pela Portaria – MEC n.º 747, de 10/09/2020 – D.O.U. 11/11/2020

Mantenedora: UNIPAR – SOCIEDADE EMPRESARIAL LTDA.

Coordenação de Pós-Graduação *Stricto Sensu* e Pesquisa

Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura

Regiane Cristina Urcoviche Lastra

Associação micorrízica, crescimento e atividades biológicas em *Arrabidaea chica* Verlot e *Levisticum officinale* Koch

Umuarama

2025

Regiane Cristina Urcoviche Lastra

Associação micorrízica, crescimento e atividades biológicas em *Arrabidaea chica* Verlot e *Levisticum officinale* Koch

Tese apresentada como parte das exigências para a obtenção do grau de doutora em Biotecnologia Aplicada à Agricultura pela Universidade Paranaense - UNIPAR.

Orientador: Prof. Dr. Odair Alberton

Umuarama

2025

Ficha Catalográfica

U74a Urcoviche, Regiane Cristina.

Associação micorrízica, crescimento e atividades biológicas em *Arrabidaea chica* Verlot e *Levisticum officinale* Koch / Regiane Cristina Urcoviche. – Umuarama: Universidade Paranaense - UNIPAR, 2025.

105 f.

Orientador: Dr. Odair Alberton.

Tese (Doutorado) – Universidade Paranaense - UNIPAR.

1. Simbiose. 2. Micorriza. 3. Bioestimulante. I. Universidade Paranaense - UNIPAR. II. Título.

(21 ed.) CDD: 615.321

Bibliotecária Responsável Regiane Luiza Campaneli CRB 9/2194

Associação micorrízica, crescimento e atividades biológicas em *Arrabidaea chica* Verlot e *Levisticum officinale* Koch

Tese aprovada como requisito obrigatório para obtenção do Grau de Doutora no Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura da Universidade Paranaense - UNIPAR, pela seguinte banca examinadora:

Profa. Dr^a. Silvia Graciele Hülse de Souza
Universidade Paranaense – UNIPAR

Profa. Dr^a. Suelen Pereira Ruiz Herrig
Universidade Paranaense – UNIPAR

Profa. Dr^a. Caroline Lermen Munhoz
Centro Universitário – UNISEP

Profa. Dr^a. Meire Pereira de Souza Ferrari
Instituto Federal do Paraná – IFPR

Prof. Dr. Odair Aberton
Universidade Paranaense – UNIPAR

Universidade Paranaense – UNIPAR

Umuarama, 18 de julho de 2025.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela dádiva da vida, pela oportunidade de evoluir, pela sabedoria concedida e, acima de tudo, pela força para enfrentar os desafios, além da graça de mais uma conquista.

Minha gratidão especial aos meus pais, Maria Aparecida Guerra Urcoviche e João Félix Urcoviche, por me concederem o dom da vida e sempre incentivarem meus estudos.

A minha filha Rafaela Cristina Urcoviche Francisco e meu filho Ramon Urcoviche Dalla Lastra, meu esposo Edi Carlos Dalla Lastra, meu alicerce e apoio incondicional.

Ao Professor Doutor Odair Alberton, meu orientador, que compartilhou seus conhecimentos com sabedoria, sendo essencial para a realização desta pesquisa.

A Professora Doutora Silvia Hulse, cuja colaboração enriqueceu o trabalho com valiosas contribuições práticas.

Expresso minha profunda gratidão aos professores do Doutorado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, que contribuíram de forma excepcional com seus ensinamentos na minha formação acadêmica e profissional.

Aos meus colegas de laboratório de Biotecnologia Aplicada à Agricultura que colaboraram de alguma forma na minha pesquisa.

Aos funcionários do Horto Medicinal da UNIPAR e demais funcionários da instituição que contribuíram para meu aprendizado.

Minha gratidão à secretaria do Doutorado pelo profissionalismo, competência e ética.

A Universidade Paranaense, por proporcionar a realização deste curso, disponibilizar infraestrutura e viabilizar minha formação por meio da concessão da bolsa CAPES.

Por fim, a todos os colegas do doutorado, pela amizade e momentos valiosos que compartilhamos ao longo desta jornada.

OBRIGADA!!!

A minha família.

DEDICO.

***“NAS GRANDES BATALHAS DA VIDA O PRIMEIRO PASSO PARA A VITÓRIA É O
DESEJO DE VENCER...”***

Mahatma Gandhi

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

- Tabela 1. Valores de p (em negrito são significativos) para ANOVA two-way das variáveis do solo (substrato), plantas e atividade biológicas de *Arrabidaea chica* crescendo sob diferentes níveis de P e inoculados ou não com FMAs 33
- Tabela 2. Densidade de esporos (número de esporos g^{-1} de solo seco), colonização radicular (%) por fungos micorrízicos (FMA), carbono da biomassa microbiana (MB-C, $\mu g CO_2 g^{-1}$), respiração basal do solo (RBS, $\mu g C-CO_2 g^{-1} h^{-1}$) e quociente metabólico (qCO_2 , $\mu g CO_2 \mu g^{-1} C$ microbiano h^{-1}) no cultivo de *Arrabidaea chica* sob diferentes doses de P ($mg kg^{-1}$ solo) inoculado ou não com FMA 35
- Tabela 3. Número de diâmetro do caule (cm), altura (cm) e número de perfilhos da *Arrabidaea chica* sob diferentes doses de P ($mg kg^{-1}$ solo) inoculado ou não com FMA 37
- Tabela 4. Matéria fresca da raiz (MFR, g), matéria seca da raiz (MSR, g), matéria fresca parte aérea (MFPA, g), matéria seca da parte aérea (MSPA, g), e matéria seca total (MST, g) de *Arrabidaea chica* sob diferentes doses de P ($mg kg^{-1}$ solo) inoculado ou não com FMA 38
- Tabela 5. Nitrogênio da parte aérea (NPA, $mg kg^{-1}$), índice de balanço de nitrogênio (NBI) e fósforo da parte aérea (PPA, $mg kg^{-1}$) de *Arrabidaea chica* sob diferentes doses de P ($mg kg^{-1}$ solo) inoculado ou não com FMA 40
- Tabela 6. Índice de clorofila, clorofila a, b e total de *Arrabidaea chica* sob diferentes doses de P ($mg kg^{-1}$ solo) inoculado ou não com FMA..... 41
- Tabela 7. Teor de flavonoides (μg ácidgálic $mg MF^{-1}$), composto fenólicos totais (CFT) ($g L^{-1}$) e antocianinas ($mg L^{-1}$) 42
- Tabela 8. Atividade antioxidante total FRAP ($\mu mol Trolox mg MF^{-1}$), DPPH ($\mu mol Trolox mg MF^{-1}$), β -Carotenóides ($\mu mL g MF^{-1}$) e Carotenóides Totais ($\mu m g MF^{-1}$) 44
- Tabela 9. Açúcar Total (AcTot - $\mu g g^{-1} MF$), açúcar redutor (AcRed - $\mu g g^{-1} MF$) e açúcar não redutor (AcNred - $\mu g g^{-1} MF$) da planta *Arrabidaea chica*.....46

CAPÍTULO II

Tabela 1. Análise de variância – ANOVA bidirecional de vários parâmetros do solo (substrato) e da planta <i>Levisticum officinale</i> inoculado ou não com FMA <i>Rhizophagus clarus</i> , <i>Claroideoglossum etunicatum</i> e ou não <i>Azospirillum brasilense</i>	73
Tabela 2. Colonização radicular e arbúsculo (%) por fungos micorrízicos (FMA) e densidade de esporos (número de esporos g ⁻¹ de substrato seco) de plantas de <i>Levisticum officinale</i> inoculadas ou não com FMA e <i>Azospirillum brasilense</i>	75
Tabela 3. Respiração basal do solo (RBS, µg C-CO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹) carbono da biomassa microbiana (CBM, µg CO ₂ g ⁻¹), e quociente metabólico (<i>q</i> CO ₂ , µg CO ₂ µg ⁻¹ C-microbiana h ⁻¹) da planta <i>Levisticum officinale</i> inoculada ou não com FMA e <i>Azospirillum brasilense</i>	76
Tabela 4. Massa fresca da raiz (MFR - g planta ⁻¹), massa fresca da parte aérea (MFPA - g planta ⁻¹), massa fresca total (MFT - g planta ⁻¹) da planta <i>Levisticum officinale</i> inoculada ou não com FMA e <i>Azospirillum brasilense</i>	78
Tabela 5. Massa seca da raiz (MSR - g planta ⁻¹), massa seca da parte aérea (MSPA - g planta ⁻¹), massa seca total (MST - g planta ⁻¹) e relação da MSR/MFPA da planta <i>Levisticum officinale</i> inoculada ou não com FMA e <i>Azospirillum brasilense</i>	79
Tabela 6. Nitrogênio da parte aérea (NPA), índice de balanço de nitrogênio (NBI) e fósforo da parte aérea (PPA) da planta <i>Levisticum officinale</i> inoculada ou não com FMA e <i>Azospirillum brasilense</i>	81
Tabela 7. Altura da planta (cm), índice do teor de clorofila (IC), clorofila A, B e clorofila total da planta <i>Levisticum officinale</i> inoculada ou não com FMA e <i>Azospirillum brasilense</i>	80
Tabela 8. Teor de flavonoides (µg ácido gálico mg.MF ⁻¹), compostos fenólicos totais (CFT) (µg mL ⁻¹) e antocianinas (mgL ⁻¹) da planta <i>Levisticum officinale</i> inoculada ou não com FMA e <i>Azospirillum brasilense</i>	84
Tabela 9. Atividade ferric reducing antioxidant power (FRAP) (µmol Trolox mg MF ⁻¹), radical de nitrogênio (DPPH) (µmol Trolox mg MF ⁻¹), β-caroteno (µmL), Carotenoide Total (µmL da planta <i>Levisticum officinale</i> inoculada ou não com FMA e <i>Azospirillum brasilense</i>	86
Tabela 10. Análise de açúcar total (AcTot), açúcar redutor (AcRed) e açúcar não redutor (AcNred) da planta <i>Levisticum officinale</i> inoculada ou não com FMA e <i>Azospirillum brasilense</i>	88

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II

Figura 1: Dendograma dos tratamentos T1: controle não inoculado; T2. *R. clarus*; T3: *C. etunicatum*; T4: *R. clarus* + *C. etunicatum*; T5: *R. clarus* + *A. brasilense*; T6: *C. etunicatum* + *A. brasilense*; T7: *R. clarus* + *C. etunicatum* + *A. brasilense* para *Levisticum officinale* 90

Figura 2. Análise de componentes principais (PCA) referente à resposta da *Levisticum officinale* à inoculação de fungos micorrízicos e *Azospirillum brasilense* e sua atividade antioxidante. T1: controle não inoculado; T2. *R. clarus*; T3: *C. etunicatum*; T4: *R. clarus* + *C. etunicatum*; T5: *R. clarus* + *A. brasilense*; T6: *C. etunicatum* + *A. brasilense*; T7: *R. clarus* + *C. etunicatum* + *A. brasilense*..... 92

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	13
ABSTRACT.....	14
INTRODUÇÃO GERAL	15

CAPÍTULO I

Inoculação de Fungos Micorrízicos em *Arrabidaea chica* Verlot sob diferentes doses de fósforo

RESUMO	16
ABSTRACT.....	17
1. INTRODUÇÃO	18
2. MATERIAL E MÉTODOS	23
2.1. Design Experimental	23
2.2. Densidade de esporos	24
2.3. Colonização radicular de fungo micorrízico arbuscular	24
2.4. Determinação da respiração basal e quociente metabólico do solo	25
2.5. Carbono da biomassa microbiana do solo	25
2.6. Colheita, altura, número de perfilho e determinação da massa seca das plantas	26
2.7. Nitrogênio da parte aérea e índice de balanço de nitrogênio	27
2.8. Determinação de fósforo da parte aérea da planta	27
2.9. Teores de clorofila a, clorofila b e carotenoide	28
2.10. Flavonoides e antocianinas	28
2.11. Determinação de fenólicos, Ferric Reducing Antioxidant Power e método Radicais livres	29
2.12. Sistema β -Caroteno/Ácido linoléico	30
2.13. Determinação de açúcar total	30
2.14. Determinação do açúcar redutor	31
2.15. Análise estatística	31
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4. CONCLUSÃO	47
4. REFERÊNCIAS	48

CAPÍTULO II

Crescimento e qualidade bioquímica de *Levisticum officinale* Koch inoculada com fungos micorrízicos arbusculares e *Azospirillum brasilense*

RESUMO	59
ABSTRACT	60
1. INTRODUÇÃO	61
2. MATERIAL E MÉTODOS	64
2.1. Design Experimental	64
2.2. Densidade de esporos	65
2.3. Colonização radicular de fungo micorrízico arbuscular	65
2.4. Determinação da respiração basal e quociente metabólico do solo	66
2.5. Carbono da biomassa microbiana do solo	66
2.6. Altura e determinação da massa seca da planta	67
2.7. Nitrogênio da parte aérea e índice de balanço de nitrogênio	67
2.8. Determinação de fósforo da parte aérea da planta	68
2.9. Teor de clorofila a, clorofila b e carotenoide	68
2.10. Flavonoides e antocianinas	69
2.11. Determinação de fenólicos, Ferric Reducing Antioxidant Power e método Radical de nitrogênio	69
2.12. Sistema β -Caroteno/Ácido linoléico	70
2.13. Determinação de açúcar total	71
2.14. Determinação do açúcar redutor	71
2.15. Análise estatística	72
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
4. CONCLUSÃO	94
5. REFERÊNCIAS	95

Regiane Cristina Urcoviche Lastra

Associação micorrízica, crescimento e atividades biológicas em *Arrabidaea chica* Verlot e *Levisticum officinale* Koch

RESUMO GERAL

Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) *Rhizophagus clarus* e *Claroideoglossum etunicatum* em diferentes níveis de fósforo (P), sobre o crescimento e a qualidade bioquímica da *Arrabidaea chica*, bem como investigar a resposta de *Levisticum officinale* à inoculação com os mesmos FMAs e *Azospirillum brasilense*. As plantas foram cultivadas no Horto Medicinal da UNIPAR – Umuarama em delineamentos experimentais específicos. Para *A. chica* os tratamentos influenciaram significativamente o número de perfilhos, teores de compostos fenólicos, atividade antioxidante (FRAP e DPPH), biomassa microbiana do solo, pigmentos fotossintéticos (clorofila e carotenoides), açúcares totais e redutores, flavonóides e β -caroteno. O tratamento T8 (*R. clarus* e *C. etunicatum* sob alto P) destacou-se na atividade antioxidante e compostos fenólicos, enquanto o T7 (*R. clarus*, *C. etunicatum* e baixo P) apresentou os maiores valores de biomassa aérea e colonização radicular. Já *L. officinale* o respondeu positivamente à inoculação com FMAs e *A. brasilense* sendo o tratamento T7 (*R. clarus*, *C. etunicatum* e *A. brasilense*) o mais eficiente para produção de biomassa. No entanto, os parâmetros bioquímicos, como flavonoides, compostos fenólicos e antocianinas, foram mais expressivos nos tratamentos com *C. etunicatum* isolado (T3), com *R. clarus* (T4) e a combinação de *R. clarus* e *A. brasilense* (T5). Esses resultados indicam que a maior produtividade nem sempre está associada à melhor qualidade fitoquímica, sendo a escolha do tratamento dependente dos objetivos do cultivo. De modo geral, a inoculação com FMAs, associada ao manejo de fósforo em *A. chica* e à aplicação de *A. brasilense* em *L. officinale*, demonstrou potencial como bioestimulante, representando uma alternativa sustentável para o cultivo de plantas medicinais, com benefícios agrônômicos, econômicos e ambientais.

Palavras-chave: simbiose, micorriza e bioestimulante.

Regiane Cristina Urcoviche Lastra

Mycorrhizal association, growth and biological activities in *Arrabidaea chica* Verlot and *Levisticum officinale* Koch

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effects of inoculation with the arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) *Rhizophagus clarus* and *Claroideoglossum etunicatum* at different phosphorus (P) levels on the growth and biochemical quality of *Arrabidaea chica*, as well as to investigate the response of *Levisticum officinale* to inoculation with the same AMF and *Azospirillum brasilense*. The plants were grown in the Medicinal Garden of UNIPAR – Umuarama in specific experimental designs. For *A. chica*, the treatments significantly influenced the number of tillers, phenolic compound contents, antioxidant activity (FRAP and DPPH), soil microbial biomass, photosynthetic pigments (chlorophyll and carotenoids), total and reducing sugars, flavonoids, and β -carotene. Treatment T8 (*R. clarus* and *C. etunicatum* under high P) stood out in antioxidant activity and phenolic compounds, while T7 (*R. clarus*, *C. etunicatum* and low P) showed the highest values of aerial biomass and root colonization. *L. officinale* responded positively to inoculation with AMF and *A. brasilense*, with treatment T7 (*R. clarus*, *C. etunicatum*, and *A. brasilense*) being the most efficient for biomass production. However, biochemical parameters, such as flavonoids, phenolic compounds, and anthocyanins, were more significant in treatments with *C. etunicatum* alone (T3), with *R. clarus* (T4), and the combination of *R. clarus* and *A. brasilense* (T5). These results indicate that higher productivity is not always associated with better phytochemical quality, with the choice of treatment depending on the cultivation objectives. In general, inoculation with AMF, associated with phosphorus management in *A. chica* and the application of *A. brasilense* in *L. officinale*, demonstrated potential as a biostimulant, representing a sustainable alternative for the cultivation of medicinal plants, with agronomic, economic, and environmental benefits.

Keywords: symbiosis, mycorrhizal and biostimulants.

INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é um país de grande diversidade biológica, com destaque no ranking mundial, devido ao aproveitamento de suas plantas medicinais, com alta perspectiva de desenvolvimento de fitoterápicos (BRASIL, 2006; Santos *et al.*, 2011).

Dentre as espécies de plantas brasileiras, destaca-se a *Arrabidaea chica*, cujo sinônimo *Fridericia chica*, divisão Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, subclasse Asteridae, ordem Scrophulariales, família Bignoniaceae, gênero *Arrabidaea* e espécie *A. chica* (Cronquist, 1981).

A espécie *A. chica*, é pouco explorada na literatura científica, especialmente no que diz respeito à sua simbiose com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs).

As micorrizas termo derivadas do grego mykes (fungo); rhiza (raízes), representam associações simbióticas fundamentais entre fungos e raízes de plantas (Brundrett, 2009). Para que ocorra a troca eficiente de nutrientes entre planta e fungo, é necessário que os FMAs formem estruturas ramificadas denominadas arbúsculos, que se desenvolvem no interior das células radiculares da planta hospedeira (Keymer *et al.*, 2017).

Outra planta de destaque nesse estudo é o *Levisticum officinale*, é uma planta perene amplamente utilizada como condimento em diversas regiões da Europa, valorizada por seu aroma intenso e sabor característico, além do seu uso tradicional na culinária, também pode ser empregada como ingrediente em temperos comerciais industrializados e conhecida em Portugal como “planta knorr” (Spréa, 2020).

Pertencente à família Apiaceae (Umbelliferae) e popularmente conhecida como levístico, erva-maggi, knorr, compreende mais de 3.000 espécies distribuídas em mais de 400 gêneros (Punoševac *et al.*, 2021; Khammassi *et al.*, 2022). Também se destaca pelos benefícios culinários e aplicações homeopáticas. É utilizada principalmente por suas propriedades digestivas, diuréticas e anti-inflamatórias. Rico em taninos e vitamina C, promove equilíbrio e eliminação de toxinas, contribuindo para o bem do ser humano (Botelho, 2023).

Todavia, é fundamental destacar a importância do conhecimento ao grau de micorrização entre os vegetais, bem como identificar e caracterizar espécies fúngicas dominantes. Além disso, é essencial compreender a resposta da inoculação micorrízica sob diferentes doses de fósforo e sua influência antioxidante durante o desenvolvimento da *A. chica*, assim como os efeitos na *L. officinale* e elucidar seu potencial diante da inoculação de fungos micorrízicos e *Azospirillum brasilense*. Em ambos os casos, ressalta-se o potencial fitoterápico e bioquímico, configurando uma alternativa promissora na produção sustentável com implicações significativas para o avanço biotecnológico e industrial.

CAPÍTULO I

Inoculação de Fungos Micorrízicos em *Arrabidaea chica* Verlot sob diferentes doses de fósforo

RESUMO

A ampla diversidade biológica de plantas medicinais no Brasil, juntamente com seu potencial biotecnológico, aliado à preservação ambiental e à descoberta de novas espécies, tem sido amplamente reconhecida no contexto da comercialização de fitoterápicos. Entre as localidades de maior relevância, a região Amazônica se sobressai, vale destacar a *Arrabidaea chica* Verlot. Assim, o presente estudo teve como objetivo analisar a associação micorrízica da *A. chica* com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) *Rhizophagus clarus* e *Claroideoglossum etunicatum* sob diferentes condições de baixa e alta adição de P, analisando seus efeitos no crescimento e desenvolvimento da planta. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, seguindo um fatorial 4x2 (sem e com FMAs e combinação de dois FMAs) sob adição de níveis alto e baixo de P, totalizando 64 unidades experimentais. O tratamento T8 promoveu um aumento no número de perfilhos, clorofila a, compostos fenólicos e atividade antioxidante (FRAP). Já o tratamento T7 favoreceu o aumento da densidade de esporos de FMAs, colonização radicular por FMAs, respiração basal do solo, massa fresca da parte aérea, massa seca da parte aérea, massa seca total e antocianinas. Por sua vez, o tratamento T6 aumentou o diâmetro do caule, teor de nitrogênio da parte aérea, altura da planta, fósforo da parte aérea, β -caroteno. O tratamento T5 estimulou a produção de açúcar total, enquanto o tratamento T4 favoreceu a massa fresca da raiz e os flavonóides na planta. No T3 elevou o carbono da biomassa microbiana do solo, o teor de açúcar redutor e antioxidante (DPPH). O tratamento T2 aumentou o índice de balanço de nitrogênio, índice de clorofila, clorofila b, clorofila total e caroteno. Por fim, o tratamento T1 favoreceu o qCO_2 e a concentração de açúcar não redutor. Dessa forma, este estudo evidenciou que a interação entre os FMAs, aliada à adição de fósforo, exerceu efeitos significativos sobre crescimento, desempenho fisiológico e qualidade bioquímica da planta, em que os resultados destacam que o desempenho simbiótico promoveu uma tripla ação benéfica, reforçando o potencial biotecnológico da *A. chica* e sua relevância para pesquisas voltadas ao desenvolvimento de fitoterápicos.

Palavras-chave: fitoterápico, antioxidante e fósforo.

Inoculation of Mycorrhizal Fungi in *Arrabidaea chica* Verlot under different doses of phosphorus

ABSTRACT

The broad biological diversity of medicinal plants in Brazil, along with their biotechnological potential, combined with environmental preservation and the discovery of new species, have been widely recognized in the context of the commercialization of herbal medicines. Among the most important locations, the Amazon region stands out, with *Arrabidaea chica* Verlot standing out. Therefore, the present study aimed to analyze the mycorrhizal association of *A. chica* with the arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) *Rhizophagus clarus* and *Claroideoglossum etunicatum* under different conditions of low and high P addition, analyzing their effects on plant growth and development. The experiment was conducted in a completely randomized design, following a 4x2 factorial (without and with AMF and a combination of two AMF) under high and low P addition, totaling 64 experimental units. The T8 treatment promoted an increase in tiller number, chlorophyll a, phenolic compounds, and antioxidant activity (FRAP). The T7 treatment favored an increase in AMF spore density, AMF root colonization, basal soil respiration, shoot fresh mass, shoot dry mass, total dry mass, and anthocyanins. In turn, the T6 treatment increased stem diameter, shoot nitrogen content, plant height, shoot phosphorus, and β -carotene. The T5 treatment stimulated total sugar production, while the T4 treatment favored root fresh mass and plant flavonoids. T3 increased soil microbial biomass carbon and reduced sugar and antioxidant (DPPH) content. The T2 treatment increased the nitrogen balance index, chlorophyll index, chlorophyll b, total chlorophyll, and carotene. Finally, the T1 treatment favored qCO_2 and non-reducing sugar concentration. Thus, this study showed that the interaction between AMF, combined with the addition of phosphorus, had significant effects on the growth, physiological performance, and biochemical quality of the plant. The results highlight that the symbiotic performance promoted a triple beneficial action, reinforcing the biotechnological potential of *A. chica* and its relevance for research aimed at the development of phytotherapeutics.

Keywords: phytotherapeutic, antioxidant and phosphorus.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil tem destaque mundial, por sua vasta diversidade biológica, especialmente pelo uso tradicional e científico de plantas medicinais, o que confere ao país elevado potencial para o desenvolvimento de fitoterápicos (BRASIL, 2006; Santos *et al.*, 2011).

Segundo o estudo Flora do Brasil (2020), coordenado pelo Jardim Botânico do Rio de Janeiro, são reconhecidas aproximadamente 46.900 espécies nativas brasileiras, além de 680 espécies exóticas naturalizadas, que se reproduzem espontaneamente no ambiente, e 2.336 exóticas cultivadas.

De acordo com Cragg e Newman (2013), já constataram que havia um crescente interesse incluindo a bioprospecção de competitividade tecnológica e avanços de ferramentas biotecnológicas envolvendo o uso de plantas em benefício da sociedade.

Frente a este cenário, a Região Amazônica se destaca devido às suas riquezas naturais, sendo economicamente viável ao mercado local, nacional e internacional, em virtude do aproveitamento integral de seus produtos e subprodutos como raiz, caule, folha, flor e fruto (Santos *et al.*, 2017).

Neste experimento, destaca-se a espécie *Arrabidaea chica*, pertencente à divisão Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, subclasse Asteridae, ordem Scrophulariales, família Bignoniaceae, gênero *Arrabidaea* e espécie *A. chica* (Cronquist, 1981). Segundo Fischer *et al.* (2004) o gênero *Arrabidaea* foi renomeado, passando a ser denominado *Fridericeae*.

Segundo Lorenzi (2002), o Brasil não é o único habitat da *A. chica*, podendo ser encontrada na América tropical: Cerrados, Mata Atlântica, Região Sul do Brasil e principalmente na Bacia Amazônica. Sendo uma árvore perene trepadeira distribuída também no Sul do México até a Guiana (Barbosa *et al.*, 2008; Medeiros *et al.*, 2011).

Diante de sua popularidade, *A. chica* recebe diversas denominações dependendo da região brasileira, como cipó-pau, cipó-cruz, carajuru, carapiranga, carajiru, crajiru, carajeru, crejer (Corrêa, 1984), sendo, afamada com o passar dos anos como crajiru no Amazonas, pariri no Pará, carajuru, punca-panga e chica em outras localidades (Kalil Filho *et al.*, 2000).

Considerada uma trepadeira arbustiva com aproximadamente 2,5 m de altura de ramos tetragonais, com folhas bi- ou trifoliadas, com fruto alongado agudo em ambos os lados, contendo sementes ovoides, com uma nervura média saliente nas valvas e sementes (Behrens *et al.*, 2012). Uma planta promissora devido às suas ações fitoquímicas e terapêuticas, na qual vem aumentando o interesse em estudos voltados a esse vegetal, podendo ser utilizada como um todo: raiz, caule, folha e flor (Batalha *et al.*, 2022).

Historicamente, suas folhas eram utilizadas na preparação de chás para o tratamento de diarreias, anemia, leucemia, icterícia e albuminúria (Corrêa, 1984). Além disso, *A. chica* é amplamente empregada na medicina popular para tratar impigens, sendo especialmente utilizada em lavagens de feridas e úlceras, devido às suas propriedades adstringentes e cicatrizantes (Alves *et al.*, 2010).

Seu uso terapêutico também inclui o alívio de cólicas intestinais, diarreia, corrimento vaginal, sífilis, conjuntivite, anemia, leucemia, câncer de boca, dentre outras condições (Kalil Filho, 2000). A literatura ainda destaca seu potencial bioativo, evidenciado por suas atividades antiprotozoárias, antifúngicas, anti-inflamatórias e antitumorais (Michel *et al.*, 2015; Moreira *et al.*, 2024). Além disso, suas folhas são ricas em antocianinas, compostos fenólicos com elevado poder antioxidante (Batalha *et al.*, 2022; Castro, 2023).

De acordo com Andrade *et al.* (2021) e Medeiros *et al.* (2021), as plantas medicinais representam uma alternativa promissora e acessível para o tratamento de diversas doenças, destacando o potencial terapêutico de seus compostos bioativos. Para Silva (2002), a comunidade de quilombolas utiliza *A. chica* para o tratamento de anemia, inflamação do útero, estômago, intestino, diarreia, leucemia, hepatite, regulação da menstruação, lavagem de ferimentos da pele, tosse, problemas de rins e do fígado.

Vasconcelos *et al.* (2021) investigaram a atividade das frações n-hexano, acetato de etila e butanol obtidas de *A. chica* Verlot contra a osteoartrite (OA) induzida por MIA (injeção intra-articular de monoiodoacetato) em ratos e constataram potencial analgésico e anti-inflamatório significativo, demonstrando uma inibição de 90% da COX-2, demonstrando relevância no processo inflamatório. Já Takenaka *et al.* (2020), analisaram o perfil químico do extrato hidroetanólico de *A. chica* e avaliaram sua atividade anti-inflamatória intestinal em camundongos, onde os resultados indicaram perda de peso, preservação da barreira intestinal bem como seus níveis de permeabilidade, efeito atribuído à sua forte capacidade de eliminação de radicais lipídicos.

Outro fator importante encontrado na *A. chica* é a carajurina, um composto bioativo investigado como marcador biológico para atividade antileishmania a partir dos extratos hidroalcoólicos da planta, apresentando efeito letal contra essas formas de parasitas (Moragas *et al.*, 2020; Souza *et al.*, 2023).

Corrêa (1984) e Taffarello *et al.* (2013) relatam que os povos indígenas usavam as folhas de *A. chica* como pigmento para tingir seus corpos, enfeites, utensílios, vestimentas e para elaboração de tatuagens, devido à extração de suas folhas ser de cor vermelho-escuro. Segundo Zorn (2001), essa coloração também era utilizada em práticas de magia, proteção contra picada

de mosquitos e como protetor solar. De acordo com Alves *et al.* (2010), essa cor demonstra presença de açúcar redutor, alcaloides, antocianidinas, antocianinas, antraquinonas, esteroides, triterpenoides, fenóis, flavonóides, flavonóis, flavanonas, saponinas, taninos, catequinas, cumarinas, polissacarídeos e proteínas (Barros, 2018).

Segundo Freitas *et al.* (2023), o chá das folhas de *A. chica* é popularmente utilizado por pacientes com câncer durante os tratamentos de quimioterapia ou radioterapia. Acredita-se que ela possa auxiliar na elevação dos níveis de eritrócitos e plaquetas, geralmente reduzidos em decorrência desses tratamentos agressivos. Piriz *et al.* (2015), já haviam relatado o uso da planta no contexto oncológico, destacando seu potencial como agente estimulador na produção de células sanguíneas, especialmente durante a quimioterapia ou radioterapia.

De acordo com Ferreira *et al.* (2016), foram avaliados os efeitos do extrato da planta *A. chica* em camundongos, os resultados demonstraram que o extrato etanólico promoveu um aumento significativo nas concentrações de hemácias (9,2%) e plaquetas (29,5%) nos animais testados, sugerindo um potencial fitoterápico da planta em condições que afetam parâmetros hematológicos. Rocha *et al.* (2019) também investigaram o efeito protetor do extrato de *A. chica* contra o câncer de mama quimicamente induzido em modelo animal, onde os resultados indicaram que o extrato reduziu significativamente a toxicidade hematológica associada à quimioterapia, além de diminuir o estresse oxidativo e melhorar os níveis de enzimas antioxidantes no tecido mamário.

Sendo *A. chica* uma planta medicinal de diversos princípios ativos, vem se tornando de interesse do SUS (Rénisus), no qual foi publicada em fevereiro de 2009 sua inclusão, devido à sua atividade biológica. Logo, ocorreu um registro de patente PI 0703095 relatando sua formulação farmacêutica frente à fotoproteção e pigmentação (Dias Filho *et al.*, 2014).

Em 2010, a ANVISA, por meio da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC nº 10, de março de 2010), publicou como norma a notificação de drogas vegetais, que por sua vez, não podem ser confundidas com medicamentos fitoterápicos, porém ambos são obtidos de plantas medicinais. Já a fitoterapia está conceituada pelo uso de plantas medicinais em suas diferentes formas farmacêuticas, incentivando o desenvolvimento comunitário, solidário e participativo da população social (BRASIL, 2006). Para Silva e Pamponete (2022), tornou-se uma tradição e valor familiar. Corroborando os estudos de Jamel *et al.* (2024), em que destaca a importância da valorização dos saberes tradicionais e do potencial farmacológico da *A. chica*.

Foi investigada a atividade do extrato metanólico de *A. chica*, onde leveduras revelaram resistência a esse extrato após 48 horas (Hofling *et al.*, 2010). Zago *et al.* (2020) testaram a

atividade de cicatrização de feridas *in vitro* de extrato hidroalcolico padronizado de *A. chica* em células epiteliais e osteoblásticas expostas ao ácido zoledrônico, demonstrando que as células apresentam maiores valores de viabilidade: 74,1% a 82,3% para fibroblastos e 66% para pré-osteoblastos quando usadas com *A. chica*. Confirmando seu potencial cicatrizante, anti-inflamatório, antifúngico, antitumoral, anticancerígeno, antimicrobiano e antioxidante (Jorge, 2008; Barbosa *et al.*, 2008; Ribeiro *et al.*, 2012; Ferreira *et al.*, 2013; Schiozer *et al.*, 2017; Nascimento *et al.*, 2022).

Estudo preliminar conduzido por Siraichi *et al.* (2013) constatou que a atividade fotoprotetora, tanto química quanto física, da expressão obtida a partir do extrato de *A. chica*, utilizando espectroscopia fotoacústica. Esse achado destaca a relevância das formulações fotoprotetoras encontradas comercialmente, sendo comum a associação de dois ou mais ativos para a proteção química e um bloqueador solar, no caso, o dióxido de titânio como protetor físico.

Além de plantas, pesquisas constataam que o Brasil abriga aproximadamente 12,5 a 13,5 mil espécies de fungos (Peixoto; Morim, 2003), no qual 153 espécies de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) em seu território (\cong 48%), no entanto, já existem várias espécies novas descritas para a ciência (Pereira *et al.*, 2015).

Estudos descrevem que o filo *Glomeromycota*, possui três classes, cinco ordens, 16 famílias, 44 gêneros e aproximadamente 322 espécies (Schüßler *et al.*, 2001; Tedersoo *et al.*, 2020). No qual, a partir da sua diversidade, vem favorecendo novas descobertas e ferramentas biotecnológicas agregadas ao mercado fitoterápico. Frente a esse inciso, vale destacar a importância dos FMAs, espécies simbiotes, visto que as plantas contribuem para seu desenvolvimento, no qual precisam estar associados a uma raiz viva que lhes forneça carboidratos e outros fatores para que eles possam crescer, esporular e completar seu ciclo de vida (Stürmer; Siqueira, 2013). Além disso, busca compreender a interação com diferentes doses de fósforo (P), devido ao papel fundamental desse elemento na formação de trifosfato de adenosina (ATP), principal fonte de energia para processos como fotossíntese, divisão celular, transporte de assimilados e manutenção da carga genética (Sasabuchi *et al.*, 2022; Bicudo *et al.*, 2010).

Pesquisas de (Matsubara *et al.*, 2009; Zubeck *et al.*, 2015), demonstram que a associação simbiótica dos FMAs às raízes das plantas, favorece a absorção de nutrientes essenciais, como nitrogênio (N), fósforo (P), zinco (Zn), Magnésio (Mg) e Cálcio (Ca), essa interação contribui para aumento dos níveis de pigmentos fotossintéticos nas folhas dos vegetais (Pedone-Bonfim, *et al.*, 2015) e para uma maior produção de metabólitos primários, fundamentais como

precursores de vias do metabolismo secundário (Manoharan *et al.*, 2010; Pedone-Bonfim *et al.*, 2015). Esses mecanismos podem beneficiar não apenas o desenvolvimento da *A. chica*, mas também impulsionar avanços no desenvolvimento biotecnológico sustentável.

Apesar da reconhecida importância dos FMAs e da *A. chica*, a literatura científica ainda apresenta uma lacuna significativa quanto à investigação da interação entre ambos. Até o momento, foi identificado apenas um estudo (Barazetti *et al.*, 2022) que avaliou o crescimento, as trocas gasosas foliares e a colonização micorrízica em *A. chica*, demonstrando que a associação com FMAs é evidente e benéfica, podendo ser considerada como de interesse econômico devido aos seus princípios fitoquímicos. No entanto, ainda são escassas as pesquisas voltadas ao desenvolvimento de sistemas de cultivo sustentáveis que explorem sua associação com FMAs.

Portanto, o presente estudo tem como objetivo analisar a resposta de seu metabolismo e atividades antioxidantes frente à inoculação com FMAs, os quais são reconhecidos como bioestimulantes por promoverem o aumento da absorção e translocação de nutrientes, a indução de produção de metabólitos secundários e o equilíbrio de fitohormônios na planta *A. chica*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Design experimental

As amostras de *A. chica* foram coletadas em Goioerê, estado do Paraná, localizado com latitude S 24° 11 '38.94 e longitude W 53° 01' 49.41. No qual, a muda foi originada de uma planta matriz proveniente do município de Jaru, estado de Rondônia.

Inicialmente, as estacas foram cultivadas por 89 dias em garrafas pet, sendo regadas uma vez por dia, exceto em dias chuvosos. Após esse período, foram transplantadas para vasos plásticos com 3 L de capacidade e inoculadas com FMAs em diferentes doses de fósforo (P) e permaneceram por mais 276 dias no Horto Medicinal da UNIPAR – Umuarama, localizado geograficamente com Latitude de 23° 46' 11,34 e Longitude de 53° 16' 41,78, com altitude de 442 m. As plantas foram mantidas em local aberto, com cobertura de sombrite de 0,3 milímetros, sendo irrigadas todos os dias, exceto em dias de chuva, sendo adicionada solução nutritiva contendo nitrogênio, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, após 90 dias, de acordo com Hoagland e Arnon (1950), exceto para o P adicionado já no início do experimento. Após esse período, foram levadas ao laboratório da Unipar e realizadas as análises.

Para o experimento, foi utilizada uma mistura contendo 50% de substrato orgânico + areia + Biomix® (1:1), colocado dentro de dois sacos plásticos preto e fumigado com 10 mL de clorofórmio (CHCl_3) kg^{-1} de substrato de acordo com o método adaptado (Endlweber; Scheu, 2006), após misturado o CHCl_3 ao solo os sacos foram hermeticamente fechados e deixados fumigando por três dias. Após o período, os sacos ficaram abertos dentro de uma câmara de exaustão química e após sete dias realizado o transplântio das mudas.

Em cada vaso foi realizado o plantio de uma muda-estaca de *A. chica* e inoculado com aproximadamente 200 esporos dos FMAs e *Rhizophagus clarus* e *Claroideoglossum etunicatum* provenientes do banco de Glomales da UNIPAR nos tratamentos com inoculação.

Nos tratamentos não inoculados (controles), foram adicionados 100 mL do filtrado de solo inóculo, preparado com uma proporção de 100 g de solo inóculo por litro de água deionizada estéril, visando isolar apenas o efeito dos FMAs adicionados.

Ao solo com baixa dose de P (20 mg de P kg^{-1}), foram adicionados 0,88 gramas de KH_2PO_4 kg^{-1} de substrato, e isto corresponde a 200 mg de P kg^{-1} de solo em alta dose de P. Nos vasos com baixo P foram adicionados 0,38 g de cloreto de potássio (KCl). Os tratamentos tiveram aproximadamente a mesma concentração de K no solo, diferindo unicamente na concentração de P conforme a técnica utilizada por Urcoviche *et al.* (2015).

Foram divididos em 8 tratamentos com 8 repetições:

Tratamento 1: substrato + 20 mg P kg⁻¹

Tratamento 2: substrato + 200 mg P kg⁻¹

Tratamento 3: substrato + *Rhizophagus clarus* + 20 mg P kg⁻¹

Tratamento 4: substrato + *R. clarus* + 200 mg P kg⁻¹

Tratamento 5: substrato + *Claroideoglossum etunicatum* + 20 mg P kg⁻¹

Tratamento 6: substrato + *C. etunicatum* + 200 mg P kg⁻¹

Tratamento 7: substrato + *C. etunicatum* + *R. clarus* + 20 mg P kg⁻¹

Tratamento 8: substrato + *C. etunicatum* + *R. clarus* + 200 mg P kg⁻¹

2.2. Densidade de esporos

Os esporos dos FMAs foram extraídos de subamostras de 10 g de solo pela metodologia de peneiramento úmido em malha de 0,710 mm e 0,053 mm (Gerdemann *et al.*, 1963), submetidos à centrifugação em água (3000 rpm por 3 min) e em sacarose 50% (2000 rpm por 2 min) e novamente peneirados em malha de 0,053 mm.

Para a contagem e identificação, foram transferidos para placas de Petri e contados em microscópio estereoscópico (aumento de 40X) (Ferrari *et al.*, 2020).

2.3. Colonização radicular de fungo micorrízico arbuscular

Amostras das raízes finas das plantas envolvidas no experimento, inicialmente foram enxaguadas com água corrente, cortadas no comprimento de 1 a 2 cm, clareadas em KOH 10% (90 °C por 1 h). Em seguida, lavadas novamente e acidificadas com HCl 5% (90 °C por 30 min.) e enxaguadas em água corrente.

Foi adicionado em solução de azul de tripano (Trypan Blue) 0,05% e incubado em banho-maria (90 °C por 30 min.). As raízes coradas foram preservadas em lactoglicerol, conforme a técnica de Phillips e Hayman (1970) até o momento da montagem das lâminas.

A verificação de segmentos colonizados foi de três raízes com cerca de 3 cm cada uma e colocadas em lâminas, sobrepostas por lamínulas e contados 100 segmentos (Giovanetti; Mosse, 1980), sob microscópio estereoscópico (40x–100 x), identificando local colonizado, hifa, arbúsculo e vesícula.

A colonização radicular total por FMAs foi transformada pela equação:

$Col.t = (\text{ArcSen } \sqrt{Col.(\%)/100}).(180/\pi)$ para normalização dos dados.

No qual Col.t é colonização total; (%) porcentagem; Pi (π) proporção numérica originada da relação entre as grandezas do perímetro de uma circunferência e seu diâmetro com valor de 3,14.

2.4. Determinação da respiração basal do solo e quociente metabólico do solo

A respiração basal do solo (RBS) foi determinada de acordo com Jenkinson e Powlson (1976), utilizando 30 g de amostra de solo e colocando no interior do frasco de 500 mL do tipo de conserva. Em seguida, foram colocados 30 mL de NaOH 1 mol L⁻¹ dentro de um frasco de 30 mL. Foi utilizado um frasco contendo apenas NaOH como prova em branco (PB), sem solo e todos fechados hermeticamente.

Após 7 dias, foi retirado o frasco contendo NaOH e foram adicionados 2 mL de uma solução de cloreto de bário (BaCl₂) a 10% e 3 gotas de fenolftaleína (solução alcoólica a 3%) em cada frasco. Foi titulado o NaOH com HCl de normalidade conhecida de 0,5 mol L⁻¹.

Para calcular o CO₂ liberado foi utilizada a equação:

$$\text{RBS (mg de C-CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ solo h}^{-1}) = (((B-V) \cdot M \cdot E \cdot 1000)/PS)/T$$

Onde: B = volume de HCl usado para titular o NaOH da prova em branco (PB); V = volume de HCl usado para titular o NaOH do tratamento; M = molaridade do HCl; E = equivalência grama de carbono = 6; 1000 = transformar g em kg de solo; PS = peso do solo seco em gramas e T = tempo de incubação em horas.

O quociente metabólico ($q\text{CO}_2$) foi calculado a partir da razão entre a respiração basal e o carbono da biomassa microbiana; o quociente microbiano foi obtido a partir da razão entre o carbono microbiano e o carbono total, conforme descrito por Silva *et al.* (2007). O cálculo $q\text{CO}_2$ foi pela equação:

$$q\text{CO}_2 \text{ (mg C - CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{ BMS - C} \cdot \text{h}^{-1}) = \text{RBS (mg C - CO}_2 \cdot \text{kg}^{-1}) / \text{BMS - C (mg C} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ solo)}.$$

Onde $q\text{CO}_2$: quociente metabólico do solo; RBS: respiração basal do solo e BMS-C: carbono da biomassa microbiana.

2.5. Carbono da biomassa microbiana do solo

O carbono da biomassa microbiana do solo (CBM) foi determinado pelo método de fumigação-extração proposto por Vance *et al.* (1987) e modificado por Tate *et al.* (1988). O

CBM extraído foi estimado de acordo para Lermen *et al.* (2017) e Ferrari *et al.* (2020). As amostras foram analisadas em triplicata, em que cada amostra foi dividida em sete subamostras de 10 g (três fumigadas ou não e uma para obtenção da umidade do solo), devidamente pesadas e acondicionadas em frascos de vidro de 100 mL.

O processo de extração das amostras fumigadas ocorreu após 24 horas de fumigação, em seguida, a eliminação dos resíduos de clorofórmio e das amostras não fumigadas. Em seguida, adicionou-se 50 mL de solução 0,5 M de sulfato de potássio (K_2SO_4). Agitado por 30 min., esperando decantar por 30 min e transferindo o sobrenadante com o auxílio de uma pipeta para um filtro de papel acoplado ao funil e tubo de 50 mL. Ao final da filtração, foi obtido o extrato de cada subamostra (fumigada ou não fumigada).

Em seguida, foram transferidos 8 mL do extrato previamente filtrado para um Erlenmeyer de 250 mL e foram adicionados 2 mL de solução 0,066 M de dicromato de potássio, 10 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) P.A. e 5 mL de ácido orto-fosfórico (H_3PO_4) P.A., todos com o auxílio de dispensador e ordem cronológica. Após esfriar, foram adicionados 70 mL de água deionizada, e à espera de esfriar novamente, foram adicionadas 4 gotas de difenilamina ($(C_6H_5)_2NH$ (1%), e foi realizada a titulação sob agitação magnética com uma solução 0,033 M de sulfato ferroso amoniacal [$(NH_2)_2 Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$]. Mudando de coloração passando da cor púrpura para verde.

Para determinação da CBM utilizou-se a equação:

$$C \text{ (mg C kg}^{-1} \text{ solo)} = (V_b - V_a) \cdot M \cdot 0,003 \cdot V_1 \cdot 10^6 / P_s \cdot V$$

Onde C é o carbono extraído do solo; V_b (mL) é o volume do sulfato ferroso amoniacal gasto na titulação da solução controle (branco); V_a (mL) é o volume de sulfato ferroso amoniacal gasto na titulação da amostra; M é a molaridade do sulfato ferroso amoniacal. V_1 volume do extrator sulfato de potássio utilizado; V_2 é a alíquota pipetada do extrato para titulação; 0,0033 é o miliequivalente do C; P_s (g) é a massa do solo seco. Adota-se $K_c = 0,4$ como fator de correção, conforme Kaschuk *et al.* (2010).

2.6. Colheita, altura, número de perfilho e determinação da massa seca das plantas

Foram avaliados parâmetros de altura da planta, diâmetro do caule e número de perfilhos, sendo que a altura foi determinada utilizando uma fita métrica e o número de perfilhos foi determinado por meio da contagem manual por planta.

As raízes e a parte aérea das plantas foram separadas e pesadas a massa frescas e após foram secas em estufa com circulação de ar forçada à 65 °C por 48 h. Em seguida, foi

determinada a massa seca da parte aérea (MSPA), a massa seca das raízes (MSR) e a massa seca total (MST) por meio da pesagem com balança semi-analítica.

2.7. Nitrogênio da parte aérea e Índice de balanço de nitrogênio

A determinação do N da parte aérea (NPA), bem como índice de balanço de N (NBI), foi realizada por meio da digestão sulfúrica de 0,2 g das folhas a 450 °C, seguido pelo método Kjeldahl de destilação e titulação com 0,05 mol L⁻¹ de HCl (Silva, 2009; Lermen *et al.*, 2017), sendo o N quantificado por titulação, após procedimento de destilação por arraste a vapor.

Foram pesadas aproximadamente 200 mg de matéria seca moída e colocada em um tubo de ensaio para digestão, acrescentando 700 mg da mistura digestora e 5 mL de ácido sulfúrico. Em seguida, acondicionado em capela até atingir os 450 °C para fazer a digestão até a amostra atingir a coloração branca, em seguida, adicionado 10 mL de água destilada.

As amostras foram levadas ao destilador de N, abriu-se a válvula do copo dosador, depois foi adicionado hidróxido de sódio 15N, adicionando até que a amostra fique escura, atingindo a coloração, e, em seguida, fecha-se o copo dosador. Coloca-se o béquer contendo 10 mL de indicador no suporte da coleta, em seguida liga o destilador deixando destilar até que atinja o volume de 50 mL no béquer.

Após a destilação, foram adicionadas 3 gotas de indicador titulado com HCL 0,05 N, sendo adicionado até o momento em que atinja o ponto da virada, ou seja, ocorrer a mudança na coloração. Em seguida, foi realizada a avaliação do NPA presente na parte aérea, bem como do NBI, que avalia o balanço entre a disponibilidade e a utilização do N pela planta.

2.8. Determinação de fósforo da parte aérea da planta

As amostras do vegetal foram secas a 60 °C por 48 h e moídas em torno de 500 mg e acondicionadas em cadinhos na mufla para incineração a 500 °C por 4 h, até atingir a combustão completa. Após o resfriamento, foram adicionados 10 mL de HCL 1 mol L⁻¹. Em seguida, os cadinhos foram colocados em uma chapa de aquecimento a 70 °C por 10 min, para solubilização total dos elementos. Após o resfriamento, filtrou e retirou 2,5 mL do sobrenadante com uma pipeta, em seguida foi adicionado 5 mL de água deionizada (Martins; Reissmann, 2007).

O P foi estimado por colorimetria com molibdato de amônio + ácido ascórbico em espectrofotômetro, utilizando um filtro vermelho e um comprimento de onda de 660 nm (Silva, 2009).

2.9. Teores de clorofila a e clorofila b e carotenoide

Os conteúdos de clorofila a, clorofila b, total e de carotenoides foram mensurados em conformidade com Lichtenthaler (1987). Foram macerados 150 mg de folhas frescas de três repetições de cada tratamento, em triplicata. As amostras foram acondicionadas em microtubos Eppendorf de 2 mL, aos quais foram acrescentados 1,5 mL de acetona PA envolto em papel alumínio para serem mantidos em ambiente de escuro, onde permaneceram sob agitação por 24 horas, sob temperatura de 6 °C. Em seguida, realizado a leitura de acordo com o protocolo adaptado para ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) (Koleva *et al.*, 2002) 645 nm para clorofila a, 663 nm clorofila b e 470 carotenoides e calculadas as concentrações dos pigmentos conforme as fórmulas de Lichtenthaler e Welbum, (1983):

$$\text{Clor a} = [(12,7.A663)-(2,69.A645)].V/(1000.M)$$

$$\text{Clor b} = [(22,9.A645)-(4,68.A663)].V/(1000.M)$$

$$\text{Clortotal} = [(20,2.A663)-(2,69.A645)].V/(1000.M)$$

$$\text{Carot} = [(1000.A470)-(1,82.CHL a-85,02.CHL b)]. V/(1000.M)$$

Onde Clor e Carot significam clorofila e carotenoides, A663, A645 e A470 representam os valores das absorbâncias, V é o volume de acetona em mL utilizado na extração de M é a massa fresca das folhas utilizadas para a extração.

2.10. Flavonoides e antocianinas

Os flavonoides e antocianinas foram extraídos segundo a metodologia descrita por Francis (1982), na qual utiliza como solvente extrator uma solução etanol-HCl. Onde foi pesado 1 g do material congelado e foi realizada a anotação. Em seguida, foram adicionados aproximadamente 30 mL da solução com uso de proveta de etanol-HCl (1,5 M) e homogeneizado em um agitador mecânico vórtex e transferido para um balão volumétrico de 50 mL (sem filtrar) envolto em papel de alumínio, completando-se para o volume final com a solução etanol-HCl (1,5 M) 20 mL.

As amostras ficaram em repouso por uma noite na geladeira e foi filtrado o material para um béquer, sempre envolto com papel alumínio protegido da luz e realizada a leitura em um comprimento de onda de acordo com o protocolo adaptado para ELISA (Koleva *et al.*, 2002), 535 nm para antocianinas e flavonoides. Já o branco foi composto da solução de etanol-HCl (1,5 M). Todo procedimento foi realizado com redução da luminosidade.

2.11. Determinação de fenólicos, Ferric Reducing Antioxidant Power e método Radicais livres

Foram pesadas 0,5 g da amostra fresca em um béquer e adicionado 20 mL de metanol 50%, e colocado em tubo falcon 50 mL, ficou em repouso, protegido da luz utilizando papel alumínio, durante 1 h em temperatura ambiente. Em seguida, foi realizada a centrifugação em 15.000 rpm por 15 min sob temperatura de 10 °C.

O sobrenadante foi recolhido e colocado em um balão volumétrico de 50 mL protegido de luz e temperatura ambiente. Depois de adicionado 20 mL de acetona 70% no resíduo que ficou no tubo que foi centrifugado, ficando de repouso por 1 h, protegido novamente da luz e temperatura ambiente. Foi realizada a centrifugação de 15000 rpm por 15 min e transferido o sobrenadante para o mesmo balão volumétrico do primeiro sobrenadante e completado com água destilada.

O conteúdo de fenólico total foi determinado usando Folin-Ciocalteu, como descrito por Waterhouse (2002), em protocolo adaptado para ELISA em 750 nm. Para o cálculo do teor fenólico foi necessário construir uma curva de calibração com os valores de absorvância de acordo com as concentrações de ácido gálico e calcular a equação da reta e o coeficiente de correlação linear (r), onde valores acima de 0,99 demonstraram níveis adequados de precisão, no qual, y = valor de absorvância; x = teor de fenólicos totais, onde os resultados obtidos foram expressos em $\mu\text{g mL}^{-1}$.

O potencial antioxidante também foi avaliado por meio do método de redução do ferro (FRAP), conforme descrito por Rufino et al. (2006). Também foi realizado o mesmo processo das amostras conforme descrito anteriormente. As amostras foram determinadas pela mistura de 270 μL de FRAP e 10 μL de amostras e 20 μL de água e homogeneizadas e mantidas em banho-maria a 37 °C por 30 min e realizada a leitura a 595 nm. A partir das absorvâncias obtidas das diferentes diluições dos extratos, plotada a absorvância no eixo Y e a diluição (mg L^{-1}) no eixo X. Em seguida, determinada a equação da reta ($y = mx + b$), onde y é a absorvância; x a concentração (mg L^{-1}); m é o coeficiente angular e b o intercepto no eixo Y.

A atividade antioxidante dos extratos das folhas foi avaliada com base no efeito sequestrador de radicais livres do DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), utilizando protocolo adaptado para ELISA em 515 nm (Koleva *et al.*, 2002), sendo repetida no intervalo de 30 min. cada vez que estabiliza. Os resultados foram expressos em percentual de sequestro de radical livre (%SRL), conforme equação: $\%SRL = (AC-AM)/AC \times 100$, onde AC é a absorvância do controle e AM é a absorvância da amostra.

2.12. Sistema β -Caroteno/Ácido linoléico

O sistema Beta-Caroteno/Ácido Linoleico, seguido pelo protocolo de Mattos *et al.* (2009), adaptado para microplacas em leitura no ELISA. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Foi pesado 100 mg de amostra de massa fresca, em seguida adicionado 0,5 mL de etanol a 70% e agitado por 1 h. em um shaker, 20 min. em banho de ultrassom e centrifugado por 10 min. a 10000 rpm. Ao final foi recolhido o sobrenadante e transferido para um tubo limpo. Ocorreu a repetição do procedimento de extração para o resíduo que ficou no fundo do tubo Eppendorf, em seguida, adicionou-se 0,5 mL de etanol a 70%. A amostra foi agitada por 1 h. em um shaker por 20 min. em banho de ultrassom e foi centrifugado por 10 min. a 10000 rpm, recolhido o sobrenadante e transferido para o tubo com a amostra.

A atividade antioxidante foi determinada pela mistura de 280 μ L de emulsão contendo β -caroteno/ácido linoléico e 20 μ L de amostras, além disso, alíquotas de 280 μ L de emulsão do branco foram transferidas para placas de ELISA contendo 20 μ L de extratos. Plotadas em microplacas de fundo chato, sendo mantidas a 50 °C, durante 120 min. a 470 nm, sendo realizada a leitura antes e após 120 min.

Os resultados foram expressos em porcentagem da atividade antioxidante conforme equação: $\%AA = [1 - (\text{Abscinicial} - \text{Abscfinal}) / (\text{Absaminicial} - \text{Absamfinal})] \times 100$ em que, %AA = porcentagem da atividade antioxidante; Abscinicial = absorvância inicial do controle; Abscfinal = absorvância final do controle; Absaminicial = absorvância inicial da amostra e Absamfinal = absorvância final da amostra.

2.13. Determinação do açúcar total

Foram pesados 200 mg da massa vegetal e adicionados 2 mL de água destilada e homogeneizada no vórtex, em seguida centrifugados por 5 min. a 7000 rpm, recolhido o sobrenadante para um novo tubo. Foi retirado 1 mL do sobrenadante e realizado o teste de DNS.

Em cada poço de microplaca foi adicionado, 25 μ L de amostra e 25 μ L do reativo DNS, levado ao banho fervente por 5 min., em seguida resfriado em gelo e adicionado 330 μ L de solução de tartarato duplo de sódio e potássio, por fim as microplacas foram levadas para leitura no ELISA e lidas a 490 nm de acordo com protocolo de Maldonade *et al.* (2013) e Santo *et al.* (2017).

2.14. Determinação do açúcar redutor

As amostras foram homogeneizadas em nitrogênio líquido, adicionadas 4 mL de etanol 80% em 250 mg de massa vegetal e agitadas no vórtex, mantidas a 75 °C por 10 min e centrifugadas a 10.000 rpm por 10 min. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo, lavado o precipitado com 4 mL de etanol 80% e coleta do sobrenadante de acordo com o protocolo de Maldonade *et al.* (2013) e Santo *et al.* (2017).

Depois de pipetadas as amostras em microplaca, foram seladas com filme plástico pvc e levadas a banho fervente por 5 min., em seguida resfriadas em gelo e retirado o filme plástico que selava e adicionado 330 µL de água deionizada autoclavada.

A leitura foi realizada em ELISA a 490 nm a temperatura de 25 °C sem cinética apenas uma vez e foi realizado o cálculo de sensibilidade, linearidade, limite de detecção e limite de quantificação.

2.15. Análise estatística

Todos os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA). As médias foram comparadas pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) utilizando SPSS for Windows versão 22.0 (SPSS Inc. Chicago, IL, EUA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 apresenta os resultados da análise de variância (ANOVA) para diversas variáveis, comparando três fatores: a inoculação com FMAs, adição de P e a interação entre ambos. Observa-se que tanto a inoculação com FMAs quanto a interação com a adição de P influenciaram significativamente vários parâmetros analisados. Esses achados enfatizam a relevância de se considerar não apenas os efeitos isolados, mas também as interações entre os fatores, a fim de compreender os impactos sobre os aspectos microbiológicos e fisiológicos das plantas.

Na análise da densidade dos esporos observa-se um efeito significativo ($p \leq 0,001$) para a inoculação por FMAs, indicando uma influência direta da inoculação (Tabela 1). Já na colonização micorrízica, a inoculação por FMAs também demonstrou um efeito significativo ($p \leq 0,001$), o mesmo foi observado com a interação entre FMA e P, apresentando uma resposta significativa ($p = 0,023$), indicando um efeito combinado entre esses dois fatores na colonização radicular por FMAs (Tabela 1).

Como a capacidade de fixação de P no solo e a competição com a biota heterotrófica influenciam sua disponibilidade para as plantas (Lima, 2020), estudos realizados em diferentes tipos de solos indicam que solos com maior concentração de argila tendem a apresentar uma fixação mais eficiente de P (Johri *et al.*, 2015; Santos *et al.*, 2016). Além disso, observa-se que, em determinadas condições, plantas inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) podem apresentar uma absorção de P inferior àquela observada em plantas não micorrizadas. Esse comportamento, embora contraintuitivo, ainda não é completamente compreendido e existem lacunas significativas quanto à contribuição dos FMAs nesse fenômeno (Sainz; Arines, 1988; Qiao *et al.*, 2015).

O CBM ($p = 0,088$) e o $q\text{CO}_2$ ($p = 0,467$) foram influenciados significativamente pela inoculação com FMAs (Tabela 1), indicando que a inoculação com FMAs melhora a saúde e a qualidade do solo.

O diâmetro do caule não foi significativamente influenciado pela inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). Por outro lado, a altura da planta e o número de perfilhos apresentaram diferenças estatísticas relevantes ($p \leq 0,05$), em função da interação entre FMA e adição de P, indicando que o efeito combinado desses fatores exerce influência direta na formação de novos ramos.

Esses resultados contrastam parcialmente com os encontrados por Minhoni e Auler (2003), que relataram efeitos significativos da inoculação com *Glomus macrocarpum* e da

adição de P sobre o diâmetro do caule, altura da planta e número de folhas em mamoeiro. No estudo citado, a inoculação micorrízica permitiu reduzir a necessidade de P promovendo crescimento equivalente ao de plantas não inoculadas com altas doses de P, o que evidencia a eficiência da simbiose micorrízica. A divergência entre os resultados pode estar relacionada às diferenças fisiológicas entre as espécies estudadas, bem como às condições experimentais específicas.

Tabela 1. Valores de p (em negrito são significativos) para ANOVA two-way das variáveis do solo (substrato), plantas e atividade biológica de *Arrabidaea chica* crescendo sob diferentes níveis de P e inoculados ou não com FMAs.

Parâmetro	FMA	P	FMA x P
Esporos (nº de esporos por g ⁻¹ de substrato)	<0,001*	0,655	0,597
Colonização radicular por FMA (%)	<0,001	0,318	0,023
(RBS) respiração basal do solo (µg C-CO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹)	0,071	0,582	0,404
(CBM) carbono da biomassa microbiana (µg CO ₂ g ⁻¹)	0,040	0,668	0,088
(qCO ₂) Quociente metabólico do solo (µg CO ₂ µg ⁻¹ C-microbiana h ⁻¹)	0,001	0,528	0,467
Diâmetro do caule (mm)	0,359	0,306	0,359
Altura da planta (cm)	0,634	0,492	0,004
Número de perfilhos	0,478	0,415	0,012
(MFPA) massa fresca da parte aérea (g)	0,128	0,771	0,082
(MSPA) massa seca da parte aérea (g)	0,356	0,966	0,013
(MFR) massa fresca raiz (g)	0,003	0,418	0,360
(MSR) massa seca da raiz (g)	0,268	0,544	0,513
(MST) massa seca total (g)	0,916	0,669	0,355
(NPA) Teor de N na parte aérea da planta	0,199	0,082	0,383
(PPA) Teor de P na parte aérea da planta	0,441	0,040	0,359
(NBI) Índice de balanço de nitrogênio	0,004	0,361	0,099
(IC) Índice de clorofila	0,162	0,320	0,248
Clorofila a	<0,001	0,616	<0,001
Clorofila b	<0,001	0,168	0,036
Clorofila t	<0,001	0,189	0,046
Flavonoides (mg quercetina g ⁻¹ MF)	0,003	0,983	0,071
(CFT) Compostos fenólicos Totais ((µgEAG g _{ext} ⁻¹) ou (mg ácido gálico g ⁻¹ MF)	0,002	0,002	<0,001
Antocianinas (mg 100 g ⁻¹ MF)	0,090	0,600	0,047
(FRAP) Poder de redução do íon ferro (µmol Fe ²⁺ g _{ext} ⁻¹)	0,198	0,111	0,002
(DPPH) Eliminação do radical DPPH (µM _{Trol} m _{ext} ⁻¹)	<0,001	<0,001	<0,001
Beta Carotenoides (µmL g ⁻¹ MF)	<0,001	0,004	<0,001
Caroteno Total (µmL g ⁻¹ MF)	<0,001	0,189	0,029
(AcTot) Açúcar total (µg g ⁻¹ MF)	<0,001	<0,001	<0,001
(AcRed) Açúcar redutor (µg g ⁻¹ MF)	<0,001	0,189	0,001
(AcNred) Açúcar não-redutor (µg g ⁻¹ MF)	<0,001	<0,001	<0,001

*Valores de p em negrito são significativos ($p \leq 0,05$).

A massa seca da parte aérea (MSPA) promoveu aumento significativo em função da interação entre a inoculação com FMAs e adição de P (Tabela 1); esse resultado evidencia o papel sinérgico da simbiose micorrízica e da disponibilidade de P no estímulo ao crescimento vegetativo. Por outro lado, a produção de pigmentos fotossintéticos foi influenciada significativamente pela adição de P ($p = 0,040$), sugerindo que o fornecimento de fósforo exerce papel direto na biossíntese desses compostos. Já o índice de balanço do N apresentou uma tendência de resposta à inoculação com FMAs ($p = 0,099$) embora sem significância estatística, indicando efeito modesto da micorrização sobre esse parâmetro específico de crescimento (Tabela 1).

Nas análises de clorofila a, b e total, foi observada significância pela inoculação de FMAs e pela interação com a adição de P ($p < 0,001$) indicando que a combinação desses fatores exerce um efeito substancial na quantidade de clorofila nas plantas (Tabela 1). De acordo com Silva *et al.* (2017), ao avaliarem o crescimento de *Solanum lycopersicum* inoculado com *Rhizophagus clarus* e submetido à aplicação de substâncias húmicas, observaram aumento expressivo no índice de clorofila, associado ao maior acúmulo de fósforo nas plantas. Ambos os estudos evidenciam que a combinação de FMAs com fontes nutricionais favorece a atividade fotossintética, indicando que essa interação simbiótica pode ser uma estratégia eficaz para otimizar o desempenho fisiológico vegetal em sistemas agrícolas sustentáveis.

O teor de flavonoides ($p = 0,003$) foi afetado significativamente pela inoculação dos FMAs indicando que essa simbiose promoveu alterações relevantes na produção desses compostos bioativos. Além disso, os compostos fenólicos totais, também foram significativamente influenciados tanto na inoculação por FMAs quanto pela adição de P ($p = 0,002$), reforçando o papel sinérgico desses fatores na indução de respostas metabólicas secundárias. A interação de FMA x P ($p < 0,001$) apresentou um efeito ainda mais expressivo, sugerindo que a combinação desses tratamentos potencializa a síntese de compostos fenólicos, possivelmente por estimular mecanismos de defesa e rotas biossintéticas associadas ao metabolismo antioxidante das plantas (tabela 1).

Esses resultados indicam que o fator P influenciou a concentração de compostos fenólicos e que seu efeito variou conforme o nível de FMA. Estudos apontam que o CFT possui como característica distintiva sua capacidade antioxidante, relacionada à estrutura química, permitindo a estabilização de radicais livres (Balasundran *et al.*, 2006; Paula *et al.*, 2018).

Em antocianinas ocorreu uma interação significativa entre FMA e P ($p = 0,047$) (Tabela 1). Esse resultado sugere que o efeito de um fator na concentração de antocianinas varia de acordo com o nível do outro fator.

Para análise de redução de íon ferro (FRAP), eliminação do radical DPPH, Beta Carotenóides, Caroteno total, açúcar total, redutor e não redutor em diferentes tratamentos, assim como suas interações, influenciaram significativamente a concentração de diversos compostos bioativos nas plantas. Visto que a análise de variância possibilitou identificar os tratamentos e interações mais relevantes para explicar as diferenças observadas (Tabela 1).

Os tratamentos com a inoculação com FMAs e a adição de P influenciaram significativamente a densidade de esporos, a colonização radicular por FMAs e a qualidade do solo/substrato medida por RBS, CBM e qCO_2 (Tabela 2).

Tabela 2. Densidade de esporos (número de esporos g^{-1} de solo seco), colonização radicular (%) por fungos micorrízicos (FMA), carbono da biomassa microbiana (MB-C, $\mu g CO_2 g^{-1}$), respiração basal do solo (RBS, $\mu g C-CO_2 g^{-1} h^{-1}$) e quociente metabólico (qCO_2 , $\mu g CO_2 \mu g^{-1} C$ microbiano h^{-1}) no cultivo de *Arrabidaea chica* sob diferentes doses de P (mg kg^{-1} solo) inoculado ou não com FMA.

Trat	Esporos	Colonização	RBS	CBM	qCO_2
1	3,52±0,74b	0,25±0,16c	1,21±0,08a	314,38±33,03b	4,06±0,44a
2	3,63±0,58b	1,28±0,47c	1,23±0,16a	439,20±49,65a	3,27±0,76ab
3	13,45±0,91a	55,30±7,99a	1,24±0,10a	484,56±48,13a	2,68±0,27b
4	15,59±1,31a	33,58±5,23b	1,00±0,05a	456,12±32,39a	2,29±0,23b
5	16,02±1,17a	28,17±4,41b	1,03±0,06a	475,39±27,08a	2,20±0,17b
6	16,45±1,19a	36,12±6,72b	1,00±0,13a	455,08±35,96a	2,31±0,40b
7	16,54±1,72a	56,26±3,77a	0,93±0,09a	449,52±25,30a	2,10±0,22b
8	15,42±1,44a	54,94±4,27a	1,01±0,06a	417,16±17,58a	2,47±0,21b
Sig.	<0,001	<0,001	0,170	0,033	0,008

Valores médios (n=8±erro padrão); letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$). T1: controle + baixo P; T2: controle + alto P; T3: *R. clarus* + baixo P; T4: *R. clarus* + alto P; T5: *C. etunicatum* + baixo P; T6: *C. etunicatum* + alto P; T7: *R. clarus* + *C. etunicatum* + baixo P. T8: *R. clarus* + *C. etunicatum* + alto P. Sig.: significância, sob diferentes tratamentos.

Para a densidade de esporos, os tratamentos inoculados com FMAs T7 (16,54), T6 (16,45) e T5 (16,02) apresentaram, em média, uma quantidade significativamente maior de esporos em comparação com os tratamentos controles T1 (3,52) e T2 (3,63) (Tabela 2). Esses resultados indicam que os tratamentos mencionados foram mais eficazes em promover o desenvolvimento de FMAs no solo/substrato. Esse efeito positivo pode ser relevante para práticas agrícolas que buscam melhorar a saúde do solo e a absorção de nutrientes com o P pelas plantas.

De acordo com Lima (2020), os FMAs aumentam significativamente a absorção de P, onde a disponibilidade desse nutriente é limitada e mesmo em condições de competição com a

microbiota do solo, os FMAs contribuem para o incremento da massa seca e do conteúdo de P nas plantas, evidenciando seu papel essencial na nutrição vegetal.

Na análise da colonização radicular, os tratamentos T7 (56,26), seguidos por T3 (55,30) e T8 (54,94), apresentam aumento significativo conforme demonstrado na Tabela 2. Esses resultados indicam que tais tratamentos não apenas estimularam a produção de esporos, mas também favoreceram a formação de micorrizas, evidenciando sua eficiência na promoção de interações simbióticas entre as plantas e os FMAs.

Apesar da reconhecida importância dos FMAs e da planta *A. chica*, a literatura científica ainda apresenta uma lacuna quanto à investigação da associação entre ambos. Até o momento, foi identificado apenas um estudo (Barazetti *et al.*, 2022) que avaliou o crescimento vegetal e a colonização micorrízica em *A. chica* evidenciando o potencial dessa simbiose. Os autores concluíram que a associação dos FMAs com a *A. chica* é benéfica e apresentou 56,30% de colonização radicular e 2,40 esporos g^{-1} de solo seco.

Neste presente estudo, observamos que os tratamentos inoculados com FMAs T5 a T7 apresentaram taxas de colonização radicular variando entre 28,17% e 56,26%. Além disso, a densidade de esporos no solo foi significativamente superior entre 13,45 a 16,54 esporos g^{-1} de solo seco em comparação ao estudo de Barazetti *et al.* (2022). Foi possível verificar também que a associação entre *A. chica* e os FMAs influenciou diversas variáveis relacionadas ao metabolismo secundário da planta, enquanto os efeitos sobre o metabolismo primário foram mais discretos (Tabela 2).

De acordo com a literatura, a colonização micorrízica é o processo pelo qual os fungos micorrízicos estabelecem uma relação simbiótica com as raízes das plantas, promovendo uma maior absorção de nutrientes, aumentando a resistência a estresses ambientais. Uma relação ecológica mutualística, em que ambos os organismos se beneficiam da interação (Smith e Smith, 2011). Além disso, vale ressaltar o desenvolvimento das hifas de FMAs, que reduzem a distância necessária para a absorção de nutrientes, incluindo o P, otimizando assim o processo de aquisição de recursos pelas plantas (Smith *et al.*, 2008; Zou *et al.*, 2019).

Na RBS, embora os valores tenham variado entre os tratamentos, as diferenças não foram significativas (Tabela 2). Isso sugere que os tratamentos não exerceram um efeito consistente sobre a atividade microbiana total do solo. Já no T1 (314,38) observou-se uma diminuição significativa no CBM e um aumento significativo no qCO_2 (4,06) quando comparado ao tratamento T7 (2,10) (Tabela 2). Isso indica que na condição da ausência de FMAs baixa adição de P diminui a qualidade do solo e aumenta sua condição de estresse,

podendo levar a uma redução no desenvolvimento e crescimento da planta. Portanto, a inoculação de FMAs e a adição de P ao solo promovem um ambiente mais favorável ao desenvolvimento e à atividade dos microrganismos, com impactos positivos na fertilidade e sustentabilidade do solo. Além disso, contribui significativamente para a melhoria das condições físico-químicas do solo (Figueiredo *et al.*, 2008).

O diâmetro do caule não apresentou diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos. Os valores variaram de 7,23 a 9,32, entre os tratamentos pertencentes ao mesmo grupo estatístico ("a"). Essa uniformidade sugere que, apesar das variações numéricas observadas, os diferentes tratamentos não influenciaram de forma consistente o espessamento do caule das plantas.

Vale ressaltar que o diâmetro do caule é um parâmetro importante por estar relacionado à sustentação e ao transporte de nutrientes, mas neste caso, os resultados indicam que tais condições experimentais não promoveram alterações significativas nessa característica morfológica.

Tabela 3. Diâmetro do caule (cm), altura (cm) e número de perfilhos da *Arrabidaea chica* sob diferentes doses de P (mg kg⁻¹ solo) inoculado ou não com FMA.

Trat	Ø do caule	Altura	Nº perfilhos
1	9,06±0,53a	66,88±3,63a	3,38±0,32ab
2	9,14±0,48a	45,17±7,44b	2,86±0,26bc
3	7,40±0,64a	51,11±4,47ab	3,00±0,38abc
4	8,61±0,63a	61,26±2,42ab	3,00±0,27abc
5	9,06±0,51a	48,87±5,75b	3,86±0,40abc
6	9,32±0,78a	61,30±6,98ab	2,63±0,26c
7	8,96±0,71a	55,57±5,89ab	3,00±0,31abc
8	7,23±0,30a	44,25±3,88b	4,00±0,37a
Sig.	0,411	0,031	0,045

Valores médios (n=8±erro padrão); letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$). T1: controle + baixo P; T2: controle + alto P; T3: *R. clarus* + baixo P; T4: *R. clarus* + alto P; T5: *C. etunicatum* + baixo P; T6: *C. etunicatum* + alto P; T7: *R. clarus* + *C. etunicatum* + baixo P. T8: *R. clarus* + *C. etunicatum* + alto P. Sig.: Sig.: significância, sob diferentes tratamentos.

A altura das plantas apresentou uma variação estatisticamente significativa entre os tratamentos ($p = 0,031$), conforme demonstrado na tabela 3. Os tratamentos T1 (66,88), T4 (61,26) e T6 (61,30) destacaram-se por promover maior crescimento vertical; esse efeito pode estar relacionado à maior disponibilidade de nutrientes, à melhoria na absorção radicular ou à influência de hormônios vegetais associados à simbiose com FMAs, estimulando o desenvolvimento da planta.

Segundo Hammond e White (2008), o P é um dos nutrientes mais limitantes para o desenvolvimento das plantas, e sua deficiência pode causar atraso no crescimento, afetando processos essenciais como fotossíntese, respiração, armazenamento e transferência de energia, divisão celular e expansão das células vegetativas.

O número de perfilhos variou significativamente entre os tratamentos ($p = 0,045$) (Tabela 3), indicando que determinadas condições foram mais eficazes na estimulação e formação de perfilhos. O tratamento T8 (4,00) em comparação com o T6 (2,62) destacou-se por promover o maior número de perfilhos, sugerindo que essa combinação específica de fatores proporcionou condições favoráveis à formação de novos ramos. Como os perfilhos são estruturas fundamentais para a produtividade em diversas culturas, esse resultado reforça o potencial do tratamento T8 em otimizar o desempenho agrônômico das plantas.

A MFR ($p = 0,013$), MFPA ($p = 0,048$) e MSPA ($p = 0,042$) foram influenciados significativamente pelos tratamentos (Tabela 4), enquanto para MSR e MST não foi possível observar o efeito significativo entre os tratamentos. Essa ausência de significância indica que, apesar de alguns tratamentos terem favorecido componentes específicos, como raízes ou parte aérea, o impacto na biomassa total das plantas não foi uniforme. Esse resultado pode estar relacionado a fatores como a compensação entre o crescimento radicular e aéreo ou variações na eficiência de alocação de recursos.

Tabela 4. Matéria fresca da raiz (MFR, g), matéria seca da raiz (MSR, g), matéria fresca parte aérea (MFPA, g), matéria seca da parte aérea (MSPA, g), e matéria seca total (MST, g) de *Arrabidaea chica* sob diferentes doses de P (mg kg^{-1} solo) inoculado ou não com FMA.

Trat	MFR	MSR	MFPA	MSPA	MST
1	27,48±4,12ab	10,96±1,34a	18,90±2,67ab	8,53±1,27bc	19,49±2,56a
2	28,51±5,09ab	11,35±1,63a	25,14±1,23a	11,71±0,72ab	23,06±1,83a
3	21,93±4,67abc	9,90±1,74a	21,31±1,45ab	10,93±0,70abc	20,83±1,89a
4	30,86±3,95a	12,66±1,04a	16,25±0,80b	7,59±0,35c	20,25±1,08a
5	17,41±3,00bc	10,49±1,67a	18,24±2,77ab	9,31±1,40abc	19,80±2,75a
6	21,08±3,90abc	11,52±1,71a	21,98±3,42ab	11,33±1,53ab	22,85±2,92a
7	16,81±1,30bc	9,53±0,76a	26,02±3,53a	12,51±1,30a	21,68±1,72a
8	11,96±1,52c	7,86±1,17a	23,16±2,06ab	10,43±0,54abc	18,28±10,4a
Sig.	0,013	0,056	0,048	0,042	0,771

Valores médios ($n=8\pm$ erro padrão); letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$). T1: controle + baixo P; T2: controle + alto P; T3: *R. clarus* + baixo P; T4: *R. clarus* + alto P; T5: *C. etunicatum* + baixo P; T6: *C. etunicatum* + alto P; T7: *R. clarus* + *C. etunicatum* + baixo P. T8: *R. clarus* + *C. etunicatum* + alto P. Sig.: significância, sob diferentes tratamentos.

Os FMAs desempenham um papel crucial na nutrição das plantas, contribuindo para uma absorção mais eficiente de nutrientes, especialmente em solos com baixa mobilidade como

o P (Cardoso *et al.*, 2017; Jansa *et al.*, 2019). Brito (2012), observou que a adubação orgânica influenciou positivamente a produção de biomassa aérea e os teores foliares de nutrientes em *A. chica*, o estudo demonstrou que entre as fontes avaliadas, o esterco de aves promoveu os maiores incrementos na concentração de macro e micronutrientes nas folhas, como P, potássio, Ca, Mg, Fe e Zn, refletindo diretamente no aumento da massa seca da parte aérea.

Segundo Scrase *et al.* (2019), a colaboração das hifas desempenha um papel fundamental no processo de simbiose e na absorção de nutrientes, tanto por meio das raízes quanto das próprias hifas, influenciando a produção de massa seca e a absorção de P sob o efeito da adição de matéria orgânica. No entanto, podem ocorrer variações nesses processos em plantas micorrizadas, devido à interação significativa entre os constituintes da biota do solo (Efthymiou *et al.*, 2018; Svenningsen *et al.*, 2018).

Os diferentes tratamentos influenciaram significativamente o NPA e o NBI conforme demonstrado na Tabela 5. Indicando que alguns favoreceram um desenvolvimento foliar mais expressivo. Para NPA, os tratamentos T6 (37,50), seguidos de T8 (36,93) e T5 (36,52), apresentaram maiores valores, sugerindo maior estímulo ao crescimento vegetativo.

Já para o NBI, o destaque foi o tratamento T2, com valor máximo de 21,79, evidenciando maior acúmulo de biomassa foliar. Em contraste, os demais tratamentos mostraram, em média, valores inferiores, sugerindo que essas intervenções tiveram menor impacto ou até mesmo efeito inibitório sobre o NBI, possivelmente em função de variações hormonais ou das condições específicas proporcionadas por cada manejo. Estudos apontam que a deficiência de N pode comprometer a assimilação de CO₂ e reduzir a taxa fotossintética nas plantas, afetando diretamente o desempenho fisiológico. Além disso, o nitrogênio é um elemento essencial na biossíntese de aminoácidos e proteínas, influenciando de forma decisiva o crescimento e o desenvolvimento vegetal (Tantray *et al.*, 2019).

De acordo com Reetz Júnior (2017) e Mu e Chen (2021), o N é um elemento essencial para a síntese e translocação de moléculas de clorofila, além de desempenhar papel fundamental na fotossíntese e na produção de proteínas vegetativas, o que pode explicar os resultados observados nos tratamentos com melhor desempenho.

Por outro lado, o PPA ($p = 0,198$) não apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos (Tabela 5). Apesar disso, estudos como Hammond e White (2008) afirmam que o P é um dos nutrientes mais limitantes para o crescimento vegetal, desempenhando funções essenciais em processos como fotossíntese, respiração, armazenamento e transferência de energia, além de estar diretamente envolvido na divisão e no

crescimento celular. No qual a deficiência desse nutriente pode causar atrasos no desenvolvimento e interferir significativamente nesses processos (Boschiero, 2022).

Tabela 5. Nitrogênio da parte aérea (NPA, mg kg⁻¹), índice de balanço de nitrogênio (NBI) e fósforo da parte aérea (PPA, mg kg⁻¹) de *Arrabidaea chica* sob diferentes doses de P (mg kg⁻¹ solo) inoculado ou não com FMA.

Trat	NPA	NBI	PPA
1	32,75±1,55ab	16,82±2,01ab	3,78±0,44a
2	33,71±1,65ab	21,79±3,29a	3,92±0,11a
3	33,11±3,16ab	15,41±1,44b	3,69±0,15a
4	34,26±1,43ab	12,69±0,61b	3,30±0,29a
5	36,52±3,12a	14,32±1,31b	3,89±0,10a
6	37,50±1,78a	13,15±1,84b	3,23±0,05a
7	29,83±1,03b	11,72±0,87b	3,83±0,15a
8	36,93±1,50a	15,27±1,25b	3,35±0,27a
Sig.	0,046	0,008	0,198

Valores médios (n=8±erro padrão); letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$). T1: controle + baixo P; T2: controle + alto P; T3: *R. clarus* + baixo P; T4: *R. clarus* + alto P; T5: *C. etunicatum* + baixo P; T6: *C. etunicatum* + alto P; T7: *R. clarus* + *C. etunicatum* + baixo P. T8: *R. clarus* + *C. etunicatum* + alto P. Sig.: significância, sob diferentes tratamentos.

Todas as variáveis relacionadas à clorofila mostraram diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 6). Esses resultados indicam que os tratamentos influenciaram tanto o IC a clorofila total quanto seus componentes individuais, clorofila a e b. Vale destacar que o grupo das clorofilas desempenha um papel central, pois está diretamente envolvido na fotossíntese, junto com alguns carotenoides, porém, em menor escala (Enge e Poggiani, 1991; Rêgo e Possamai, 2004).

O tratamento T2 apresentou o maior IC (25,29), clorofila b (65,59) e total (98,51), evidenciando maior eficiência na promoção da síntese de pigmentos fotossintéticos nas plantas. Esses resultados reforçam a importância de ajustar os tratamentos nutricionais e fisiológicos de forma estratégica, visando otimizar a atividade fotossintética e consequentemente o crescimento e desenvolvimento das plantas.

Na concentração de flavonoides ($p = 0,005$), foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos, com destaque para o tratamento T4 que apresentou o maior valor (1,79) (Tabela 7). Vale ressaltar que *A. chica* é amplamente reconhecida como uma fonte rica em flavonoides, compostos bioativos com múltiplos benefícios à saúde humana. Esses metabólitos secundários apresentam propriedades antibacterianas, antivirais, anti-inflamatórias, antioxidantes, anticarcinogênicas, antialérgicas, hepatoprotetoras, vasodilatadoras, antitrombóticas, além de contribuírem significativamente para a prevenção de doenças crônicas

(Michel *et al.*, 2015; Batalha *et al.*, 2022; Nascimento *et al.*, 2022; Figueiredo *et al.*, 2023; Henrique *et al.*, 2024).

Tabela 6. Índice de clorofila, clorofila a, b e total de *Arrabidaea chica* sob diferentes doses de P (mg kg⁻¹ solo) inoculado ou não com FMA.

Trat	IC	Cloro A	Cloro B	Cloro T
1	23,21±0,10ab	34,58±0,18bc	57,78±2,43b	92,33±2,25ab
2	25,29±1,47a	33,26±0,19d	65,59±0,75a	98,51±0,65a
3	23,27±1,21ab	34,22±0,14c	54,86±1,30bc	88,99±1,27bc
4	22,29±0,80ab	34,78±0,23bc	49,55±2,13cd	84,25±1,94cd
5	22,34±1,16ab	34,67±0,24bc	51,21±4,62bcd	85,76±4,23bcd
6	21,52±1,58ab	35,09±0,17ab	51,57±4,62bcd	86,25±3,01bcd
7	20,01±0,67b	35,55±0,14a	36,95±0,55e	72,49±0,46e
8	23,27±1,07ab	35,61±0,16a	44,09±1,62de	79,70±1,56d
Sig.	0,048	<0,001	<0,001	<0,001

Valores médios (n=8±erro padrão); letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$). T1: controle + baixo P; T2: controle + alto P; T3: *R. clarus* + baixo P; T4: *R. clarus* + alto P; T5: *C. etunicatum* + baixo P; T6: *C. etunicatum* + alto P; T7: *R. clarus* + *C. etunicatum* + baixo P. T8: *R. clarus* + *C. etunicatum* + alto P. Sig.: significância, sob diferentes tratamentos.

Por outro lado, os compostos fenólicos totais exibiram diferenças altamente significativas ($p < 0,001$), com o tratamento T8 alcançando o valor mais elevado 10,48 e menor T2 (6,60), podendo ser devido as suas células sinalizadoras, assim, facilitando o reconhecimento para estabelecer a simbiose, além de colaborar com a planta a lidar com estresses ambientais, como seca ou solos pobres em nutrientes (Neto *et al.*, 2014). Esses resultados indicam que os compostos fenólicos são particularmente sensíveis às condições experimentais, refletindo alterações bioquímicas mais expressivas em resposta aos diferentes tratamentos.

De acordo com Santos (2015), os flavonoides representam a maior classe de compostos fenólicos presentes em vegetais. Estudos demonstram seu potencial antioxidante atribuído à capacidade de reduzir a formação de radicais livres, o que reforça sua aplicabilidade em contextos terapêuticos (Cíz *et al.*, 2010; Gurgel *et al.*, 2023).

A inoculação com FMAs promoveu um aumento significativo na concentração de flavonoides. Segundo Henrique *et al.* (2024), em sua revisão, os flavonoides representam 52% dos compostos do metabolismo secundário da *A. chica*, conferindo à planta, chegando a 52% uma gama de atividade biológica como antioxidantes, anti-inflamatória, antibacteriana e antifúngica.

Os flavonoides presentes no extrato de *A. chica* possuem atividade antimicrobiana demonstrando eficácia contra *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas*

aeruginosa; além disso, o extrato pode ser utilizado para o tratamento de lesões causadas por microrganismos, como fungos, leveduras e bactérias (Ribeiro *et al.*, 2008).

Tabela 7. Teor de flavonoides ($\mu\text{g acid galic.mg MF}^{-1}$), composto fenólicos Totais (CFT) (g L^{-1}) e antocianinas (mg L^{-1}).

Trat	Flav	CFT	Antioc
1	1,48 \pm 0,10bc	7,04 \pm 0,19b	0,14 \pm 0,01ab
2	1,30 \pm 0,11c	6,60 \pm 5,74b	0,13 \pm 0,01b
3	1,56 \pm 0,06abc	7,50 \pm 0,37b	0,15 \pm 0,01a
4	1,79 \pm 0,08a	7,87 \pm 0,37b	0,15 \pm 0,01a
5	1,63 \pm 0,08ab	7,77 \pm 0,62b	0,14 \pm 0,01ab
6	1,76 \pm 0,12ab	6,99 \pm 0,53b	0,16 \pm 0,01a
7	1,77 \pm 0,07ab	6,66 \pm 0,35b	0,16 \pm 0,01a
8	1,60 \pm 0,08ab	10,48 \pm 0,45a	0,13 \pm 0,01b
Sig.	0,005	<0,001	0,045

Valores médios ($n=8\pm$ erro padrão); letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$). T1: controle + baixo P; T2: controle + alto P; T3: *R. clarus* + baixo P; T4: *R. clarus* + alto P; T5: *C. etunicatum* + baixo P; T6: *C. etunicatum* + alto P; T7: *R. clarus* + *C. etunicatum* + baixo P. T8: *R. clarus* + *C. etunicatum* + alto P. Sig.: significância, sob diferentes tratamentos.

De acordo com Mafioletti *et al.* (2013), verificaram que o extrato hidroetanólico de *A. chica* apresentou atividade antimicrobiana contra *Helicobacter pylori* e moderada para *Enterococcus faecalis*; essa atividade foi atribuída à presença de compostos fenólicos, especialmente flavonoides, indicando que a composição fitoquímica está diretamente ligada à eficácia antimicrobiana.

Segundo Batalha *et al.* (2022), a atividade antioxidante dos flavonoides e dos CFT é consequência das suas propriedades de óxido-redução, visto que essas características desempenham um papel fundamental na absorção e neutralização de radicais livres, demonstrando grande eficiência no combate a diversos tipos de moléculas oxidantes que estão envolvidos em danos no DNA, promoção de tumores e com atividades antiviral, anti-inflamatória e anti-microbiana (Michel *et al.*, 2015; Nascimento *et al.*, 2022).

Em seus estudos, Siqueira *et al.* (2019) evidenciaram que, por meio do método HPLC-DAD-ESI-MS, a escutelarina foi o principal composto fenólico encontrado, sendo ele um flavonoide com diversas funções no âmbito farmacêutico. Em seguida Violante *et al.* (2020), estudou o extrato hidro etanólico obtido das folhas secas de *A. chica* (HEFc), onde passou por diversos fracionamentos por diferentes técnicas cromatográficas, utilizou microrganismos, *Streptococcus pyogenes* e *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella typhimurium*, contendo escutelarina, demonstrou não ser citotóxica,

justificando o uso tradicional das comunidades da região amazônica e sua inclusão na lista de plantas medicinais de interesse para uso do Sistema Único de Saúde (SUS) no Brasil.

No caso das antocianinas, as diferenças observadas também foram significativas ($p = 0,045$), embora apresentem um menor grau de significância em comparação com os outros tratamentos. Esse resultado reforça a hipótese de que os diferentes tratamentos podem modular a produção ou acumulação desses compostos de forma distinta, possivelmente influenciados por fatores metabólicos ou condições ambientais específicas. Essa variação pode ser representada por um dos estágios finais do processo oxidativo relacionado à diferenciação dos flavonoides (Lobo e Lourenço, 2007; Simões *et al.*, 2007).

Souza *et al.* (2023) demonstraram um método inovador e validado utilizando HPLC-DAD para quantificar *3D-anth*, expresso como carajurina. Esse composto bioativo, encontrado em *A. chica*, rico em antocianinas, atua como precursores desses pigmentos, desempenhando papel relevante na coloração vegetal e na defesa contra estresses ambientais, além do seu potencial como ingrediente farmacêutico ativo, a carajurina também representa um valioso marcador para estudos de ecologia química, contribuindo para a compreensão das interações entre plantas e seu ambiente. quanto para estudos de ecologia química.

Embora essa diferença seja menos expressiva em comparação com a observada nos flavonoides, ela pode ser exemplificada pelas antocianinas (Taiz; Zeiger, 2004). Segundo Taffarello *et al.* (2013), houve uma maior concentração de antocianinas nas folhas de *A. chica*, cujo pigmento vermelho, conhecido como carajurina, contém moléculas de 3-desoxiantocianidinas (Paula *et al.*, 2018). A literatura aponta que a *A. chica* também pode ser encontrada taninos (Behrens *et al.*, 2012), alcaloides, catequinas cumarinas, esteroides, polissacarídeos, proteínas, saponinas (Barros, 2018).

Os parâmetros antioxidantes FRAP, DPPH, β -Caroteno e Carotenóides totais foram significativamente afetados pelos diferentes tratamentos ($p < 0,01$) (Tabela 8). O tratamento T8 (18,75) promoveu um aumento significativo na atividade antioxidante medida pelo FRAP, em comparação aos demais tratamentos, o que possivelmente se deve à sinergia entre os FMAs e a alta disponibilidade de P. Em contrapartida, esse mesmo tratamento resultou em uma redução significativa na atividade DPPH, possivelmente associada ao aumento da atividade antioxidante nas plantas. Esse desempenho pode ter promovido uma maior produção de compostos bioativos, como fenóis e flavonoides, ou até mesmo potencializado os mecanismos de defesa antioxidante da planta, resultando em maior eficiência na redução do DPPH.

Por outro lado, o tratamento T6 (83,21) destacou-se pelo aumento expressivo na concentração de β -caroteno, enquanto os carotenóides totais apresentaram valor elevado de

62,38 para o tratamento T2. Segundo Molyneux (2004) e Pisoschi (2016), entre as atividades antioxidantes atribuídas às plantas, destaca-se a capacidade de sequestrar o radical livre 2,2-difenil-1-picril- hidrazila (DPPH), amplamente utilizada como ferramenta bioquímica para avaliar a eficácia das substâncias frente às espécies radicais (R).

De acordo com Delgado (2000), os carotenoides desempenham um papel essencial na fotossíntese, atuando tanto na absorção de luz quanto como fotoprotetores contra danos oxidativos. Além disso, possuem benefícios significativos para a saúde humana, como sua ação antioxidante e o potencial de conversão em vitamina A (Rolim e Andrade, 2022).

Segundo Meyers (1994), os principais carotenoides presentes nos vegetais incluem α e β -caroteno, luteína e licopeno, que também são amplamente encontrados nos alimentos. Isso explica o resultado obtido no tratamento T6 que promoveu maior acúmulo de β -caroteno, possivelmente em função da interação simbiótica com microrganismos e da disponibilidade elevada de P.

Tabela 8. Atividade antioxidante total FRAP ($\mu\text{mol Trolox mg MF}^{-1}$), DPPH ($\mu\text{mol Trolox mg MF}^{-1}$), β -Caroteno ($\mu\text{mL g MF}^{-1}$) e Carotenóides Totais ($\mu\text{mL g MF}^{-1}$).

Trat	FRAP	DPPH	β -Caroteno	Caro T
1	14,69 \pm 0,26b	40,04 \pm 0,86a	28,90 \pm 2,86bc	58,47 \pm 1,37ab
2	14,29 \pm 1,49b	40,49 \pm 0,81a	19,75 \pm 0,94bc	62,38 \pm 0,30a
3	13,91 \pm 0,75b	41,94 \pm 0,94a	30,73 \pm 3,15b	56,58 \pm 0,73bc
4	15,12 \pm 0,66b	35,57 \pm 0,90b	20,39 \pm 1,86bc	53,34 \pm 1,24cd
5	16,37 \pm 0,89ab	41,87 \pm 1,28a	30,06 \pm 3,07bc	54,44 \pm 2,64bcd
6	14,47 \pm 1,05b	27,14 \pm 0,53d	83,21 \pm 8,14a	54,49 \pm 1,92bcd
7	13,60 \pm 0,69b	32,18 \pm 1,34c	18,41 \pm 1,81c	46,11 \pm 0,26e
8	18,75 \pm 0,84a	20,24 \pm 0,29e	18,62 \pm 2,83bc	50,81 \pm 0,95d
Sig.	0,007	<0,001	<0,001	<0,001

Valores médios (n=8 \pm erro padrão); letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$). T1: controle + baixo P; T2: controle + alto P; T3: *R. clarus* + baixo P; T4: *R. clarus* + alto P; T5: *C. etunicatum* + baixo P; T6: *C. etunicatum* + alto P; T7: *R. clarus* + *C. etunicatum* + baixo P. T8: *R. clarus* + *C. etunicatum* + alto P. Sig.: significância, sob diferentes tratamentos.

Segundo Taffarello *et al.* (2013), a atividade antioxidante, avaliada pelo método DPPH, foi favorecida pela presença de antocianinas, que podem amplificar essa atividade. De acordo com Siraichi (2013), testes realizados com o extrato das folhas de *A. chica* evidenciaram atividade antioxidante por meio de diferentes métodos, como o sequestro de radicais livres DPPH, o sistema de co-oxidação β -caroteno/ácido linoleico e o potencial antioxidante reativo total. Observou-se que o aumento na concentração do extrato intensificava a capacidade de eliminação de DPPH, o que corrobora os achados de Martins *et al.* (2016), que também observaram atividade antioxidante no extrato etanólico de *A. chica* por meio do ensaio de

DPPH, bem como Santos *et al.* (2013) que testaram o extrato das folhas e obtiveram resultados significativos a atividade antioxidante.

Segundo Freitas *et al.*, (2023), em seu estudo diante do estresse oxidativo, *A. chica* reforça a importância de explorar sua atividade citoprotetora, dado seu potencial como base para a produção de fármacos com essa finalidade, além disso, a planta pode contribuir para a redução da mortalidade e para o abrandamento da toxicidade de quimioterápicos utilizados na prática oncológica.

Em estudos sobre propriedades cicatrizantes em feridas utilizando extrato metanólico de *A. chica*, Jorge (2008) constatou que os compostos presentes no extrato aumentam a produção de colágeno *in vitro* e possuem capacidade antioxidante moderada, concluindo que o extrato apresenta propriedades que estimulam o crescimento do fibroblasto e a síntese de colágeno.

Figueiredo *et al.* (2023), investigou o extrato hidroetanólico das folhas de *A. chica* por meio da análise qualitativa realizada via HPLC-PDA-ESI/MS onde avaliou sua eficácia gastroprotetora e antiulcerosa, tanto preventiva quanto curativa, além dos mecanismos de ação, utilizando modelos *in vivo* de roedores, confirmando sua efetividade no tratamento de úlceras estomacais, incluindo a restauração da mucosa, reepitelização, propriedades mucogênicas, atividade anti secretora, anti-inflamatório e antioxidante.

De acordo com Moreira *et al.* (2024), o levantamento bibliográfico sobre os compostos bioquímicos, bem como suas atividades antioxidantes e antimicrobianas presentes em *A. chica*, revelou um elevado potencial farmacológico, sendo considerada uma fonte rica em metabólitos secundários de diversas classes químicas com potencial para tratamento de diferentes enfermidades.

Corroborando com estudos de Gurgel *et al.* (2023) identificado efeito significativo no potencial antimicrobiano e antioxidante frente a extratos fúngicos de *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus subtilis*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enterica*, *Aspergillus brasiliensis*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e, especialmente, contra *Staphylococcus aureus* e *Candida parapsilosis*.

Os teores de açúcar total (AcTot), açúcar redutor (AcRed) e açúcar não redutor (AcNred) foram significativamente influenciados pelos tratamentos aplicados ($p < 0,001$) (Tabela 9), sendo que o tratamento T8 apresentou os menores valores de AcTot (7,78) e AcNred (1,41) enquanto o T7 (3,62) registrou o menor valor para AcRed.

Esses resultados evidenciam que os tratamentos exerceram influência substancial sobre o metabolismo dos açúcares, refletindo diretamente na produção e/ou acumulação de

antocianinas nas amostras. Tal modulação sugere que a interação entre microrganismos simbióticos e a disponibilidade de P desempenha papel relevante na regulação bioquímica desses compostos, indicando o papel importante dos protocolos aplicados na modulação desses compostos (Smith *et al.*, 2015).

Tabela 9. Açúcar Total (AcTot - $\mu\text{g g}^{-1}$ MF), açúcar redutor (AcRed - $\mu\text{g g}^{-1}$ MF) e açúcar não redutor (AcNred - $\mu\text{g g}^{-1}$ MF) da planta *Arrabidaea chica*.

Trat	AcTot	AcRed	AcNred
1	68,78±2,93ab	5,63±0,22d	63,15±2,80a
2	60,59±5,74abcd	7,95±0,46abc	52,63±5,50bc
3	58,60±5,37bcd	8,59±0,99a	50,01±4,70c
4	51,97±2,28d	6,20±0,55cd	46,20±2,59c
5	69,67±2,28a	8,41±0,84ab	61,26±1,71abc
6	55,15±2,79cd	8,27±0,86abc	47,54±2,48c
7	64,94±2,83abc	3,62±0,66e	61,63±3,08ab
8	7,78±0,45e	6,37±0,42bcd	1,41±0,44d
Sig.	<0,001	<0,001	<0,001

Valores médios (n=8±erro padrão); letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$). T1: controle + baixo P; T2: controle + alto P; T3: *R. clarus* + baixo P; T4: *R. clarus* + alto P; T5: *C. etunicatum* + baixo P; T6: *C. etunicatum* + alto P; T7: *R. clarus* + *C. etunicatum* + baixo P. T8: *R. clarus* + *C. etunicatum* + alto P. Sig.: significância, sob diferentes tratamentos.

Esses resultados reforçam a ideia de que diferentes condições experimentais impactam de forma específica os tipos de antocianinas produzidas, possivelmente devido a variações metabólicas ou estruturais induzidas pelos tratamentos. Esse efeito foi corroborado por estudos utilizando o teste DNS (ácido dinitrosalicílico), baseado na reação entre o açúcar redutor e o ácido 3,5-dinitrosalicílico (de cor amarela), que é reduzido a um composto avermelhado (ácido 3-amino-5-nitrosalicílico), oxidando o monossacarídeo redutor (EMBRAPA, 2013).

Além disso, também pode ser explicado pela reação de Fehling, usada para detectar a presença de açúcares redutores em solução, sendo amplamente aplicada na dosagem de glicose em pessoas com diabetes mellitus (Nelson; e Cox, 2014).

4. CONCLUSÃO

Este estudo evidenciou que a associação micorrízica de *Arrabidaea chica* com FMAs *Rhizophagus clarus* e *Claroideoglobus etunicatum*, aliada à adição de fósforo, exerceu efeitos significativos sobre o crescimento, desenvolvimento fisiológico e qualidade bioquímica da planta.

Os resultados demonstraram que o tratamento com inoculação conjunta dos dois FMAs sob alta adição de fósforo (T8) foi mais eficaz na promoção de perfilhamento, aumento de clorofila a, compostos fenólicos e atividade antioxidante (FRAP), indicando forte estímulo ao metabolismo secundário.

Por outro lado, o tratamento com os mesmos FMAs sob baixa adição de fósforo (T7) favoreceu a densidade de esporos, colonização radicular, respiração basal do solo, produção de biomassa aérea e acúmulo de antocianinas, revelando que mesmo sob condições nutricionais limitadas, a simbiose micorrízica pode potencializar o desempenho fisiológico da planta.

Além disso, o tratamento com *C. etunicatum* sob alta adição de fósforo (T6) promoveu ganhos em diâmetro do caule, teor de nitrogênio, altura da planta, fósforo da parte aérea e β -caroteno, reforçando o papel da nutrição fosfatada na expressão de características morfofisiológicas.

Portanto, os resultados indicam que a inoculação com FMAs, em especial quando combinada com manejo adequado de fósforo, representa uma estratégia promissora para o cultivo sustentável de *A. chica*, otimizando tanto sua produtividade quanto seu perfil fitoquímico, reafirmando seu potencial biotecnológico para o desenvolvimento de fitoterápicos.

5. REFERÊNCIAS

- Alves, M. S. M.; Mendes, P. C.; Vieira, G. de P. V. (2010). Pharmacognostic analysis of *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. leaves, Bignoniaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20, n. 2. p. 215–221. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2010000200013>
- Andrade, F. C.; Fernandes, F.; Júnior, A. O.; Rondina, A. B. L.; Hungria, M.; Nogueira, M. A. (2021). Enrichment of organic compost with beneficial microorganisms and yield performance of corn and wheat. *Brazilian Journal of Agricultural and Environmental Engineering*, v. 25, p. 332–339. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v25n5p332-339>
- Balasundran, N.; Sundran, K.; Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, v. 99, n. 1, p. 191–203. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042>
- Barbosa, W. L. R.; Pinto, L. do N.; Quignard, E.; Vieira, J. M. dos S.; Silva Jr, J. O. C. (2008). *Arrabidaea chica* (HBK) Verlot: phytochemical approach, antifungal and trypanocidal activities. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 18, n. 4, p. 544–548. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000400008>
- Barros, A. S. M. (2018). *Investigação Científica Tecnológica da Atividade Medicinal da Espécie Arrabidaea chica (Pariri)*. Universidade Federal do Maranhão Pinheiro, p. 35.
- Barazetti, V. M.; Gross, E.; Sodré, G. A.; Dalmolin, Â. C.; Costa, L. C. D. B.; Ribeiro, M. A. Q. (2022). Growth, leaf gas exchange and mycorrhizal colonization of three medicinal species submitted to different irradiance levels. *Ciência Rural*, v. 52, n. 3, e20200633.
- Batalha, A. D. S. J.; Souza, D. C. M.; Ubiera, R. D.; Chaves, F. C. M.; Monteiro, W. M.; da Silva, F. M. A.; Koolen, H. H. G.; Boechat, A. L.; Sartim, M. A. (2022). Therapeutic potential of leaves from *Fridericia chica* (Bonpl.) LG Lohmann: Botanical aspects, phytochemical and biological, anti-inflammatory, antioxidant and healing action. *Biomolecules*, v. 12, n. 9, 1208.
- Behrens, M. D.; Tellis, C. J. M.; Chagas, M. S. (2012). *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlot (Bignoniaceae). *Revista Fitos*, v. 7, n. 4, p. 236–244.
- Bicudo, C. E.; Tundisi, J. G.; Scheuenstuhl, M. C. (2010). *Águas do Brasil: Análises Estratégicas*; Instituto de Botânica: São Paulo.
- Boschiero, B. N. (2022). Deficiência de fósforo: 6 respostas morfológicas e fisiológicas das plantas. *Fisiologia vegetal, nutrição de plantas*. *AgroAdvance*, Disponível em: Acesso em: 08 ago. 2025.
- Botelho, F. Levístico, uma planta útil para a saúde. *Revista Jardins*. Disponível: <<https://revistajardins.pt/levistico-planta-util-saude/>> Acesso: 08 ago. 2025.
- Brasil, (2006). *Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos*. Ministério da Saúde, Brasília. Disponível em: Acesso em: 26 nov. 2024.

Brasil, Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (SUS), decreto lei Nº 5813, de 22 junho 2006.

Brito, A. U. (2012). Produção de biomassa aérea, teor e rendimento de extrato das folhas de crajiru *Arrabidaea chica* (Bonpl.) B. Verl. em função de adubação orgânica em Manaus, AM. 83 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical) - Universidade Federal do Amazonas, Amazonas. https://doi.org/10.1590/1983-084X/12_123

Brundrett M. (2009). Mycorrhizas in natural ecosystems. In “Advances in ecological research”. (In: Begon, M.; Fitter, A. H.; Macfadyen, A.) Academic Press Limited. v. 21, p. 171–313.

Cardoso, E. J. B. N.; Nogueira, M. A.; Zangaro, W. (2017). Importance of mycorrhizae in tropical soils. In: Azevedo, J., Quecine, M. (Eds.) Diversity and benefits of microorganisms from the tropics. Nature. p. 245–267. https://doi.org/10.1007/978-3-319-55804-2_11

Cíz, M.; Cízová, H.; Denev, P.; Kratchanova, M.; Slavov, A.; Lojek, A. (2010). Different methods for control and comparison of the antioxidant properties of vegetables. Food Control, v. 21, p. 518–523. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.07.017>

Corrêa, M. P. (1984). Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. 2. ed. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional

Cragg, G. M.; Newman, D. J. (2013). Natural products: A continuing source of novel drug leads. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1830, n. 6, p. 3670–3695. doi: 10.1016/j.bbagen.2013.02.008

Cronquist, A. (1981). An integrated system of classification of flowering plants. New York: Columbia University Press, p. 1262.

Delgado, V. F.; Jiménez, A. R.; Paredes, L. O. (2000). Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains-characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. v. 40, n. 3, p. 173–289. Doi: 10.1080/10408690091189257

Dias Filho, B. P.; Nakamura, T. U.; Cortez, Diógenes, A. G.; Siraichi, J. T. G.; Serra, L. Z.; Puhl, M. C. M. N.; Nakamura, C. V. (2014). Formulação farmacêutica à base da espécie vegetal *Arrabidaea chica* para fotoproteção e pigmentação, Brasil patente PI 0703095.

Efthymiou, A.; Jensen, B.; Jakobsen, I. (2018). The roles of mycorrhiza and *Penicillium* inoculants in phosphorus uptake by biochar-amended wheat. *Soil Biology and Biochemistry* v. 127, p. 168–177, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.09.027>

Endlweber, K.; Scheu, S. (2006). Establishing arbuscular mycorrhiza-free soil: a comparison of six methods and their effects on nutrient mobilization. *Applied Soil Ecology*, v. 34, p. 276–279. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2006.04.001>

Engel, V. L.; Poggiani, F. (1991). Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, Londrina, v. 3, n. 1, p. 39–45.

Embrapa (2013). Protocolo para determinação de açúcares totais em hortaliças pelo método de DNS, Comunicado Técnico, Brasília, n. 85. ISSN 1414.9850.

Ferrari, M. P. S.; Cruz, R. M. S.; Queiroz, M. S., de Andrade, M. M., Alberton, O., Magalhães, H. M. (2020). Efficient ex vitro footing, acclimatization, and cultivation of *Curcuma longa* L. from mycorrhizal fungi. *Journal of Crop Science Biotechnology*, v. 23, p. 469–482. <https://doi.org/10.1007/s12892-020-00057-2>

Ferreira, F. A. G.; Carvalho, C. M.; Costa, J. C.; Ferreira, J. M. R. (2013). Comprovação do potencial medicinal de *Arrabidaea chica* (Bignoniaceae). *Scientia prima*, v. 1, n. 1, p. 1–6.

Ferreira, F. A. G.; Silva, F. C.; Carvalho, C. M.; Costa, J. C.; Ferreira, J. M. R. (2016). Perfil hematológico e bioquímico plasmático de camundongos após ingestão da planta *Arrabidaea chica*. *Scientia Plena*, v. 12, n. 9. 091005. <https://doi.org/10.14808/sci.plena.2016.091005>

Figueiredo, C. C.; Ramos, M. L. G.; Tostes, R. (2008). Physical properties and organic matter in a red latosol under management systems and native cerrado *Bioscience Journal*, v. 24, n. 3, p. 24–30.

Figueiredo, F. F.; Damazo, A. S.; Arunachalam, K.; Silva, M. J. D. S.; Pavan, E.; Lima, J. C. S.; Martins, D. T. de O. (2023). Evaluation of the gastroprotective and ulcer healing properties by *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann hydroethanolic extract of leaves. *Journal of ethnopharmacology*, v. 309, 116338. Doi: 10.1016/j.jep.2023.116338

Fischer, E.; Theisen, I.; Lohmann, G. L. (2004). Bignoniaceae. In book: *The families and genera of vascular plants*. Springer-Verlag Heidelberg, Alemanha, v. 7, n. 1, p. 9–38.

Francis, F. J. (1982). Analysis of anthocyanins. In: Markakis, P. (Ed.). *Anthocyanins as food colors*. New York: Academic Press, p. 181–207. https://doi.org/10.1007/978-0-387-77335-3_9

Freitas, J. M. R.; Reis, C. L. F.; Carvalho, C. M.; Vale, G. T. do. (2023). Os efeitos da *Fridericia chica* no estresse oxidativo. *Revista Eletrônica Acervo Médico*, v. 23, n. 4, e12514. <https://doi.org/10.25248/reamed.e12514.2023>

Gerdemann, J. W.; Nicolson, T. (1963). Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*, v. 46, p. 235–246.

Giovannetti, M.; Mosse, B. A. (1980). Evaluation of techniques for measuring VA mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, v. 84, p. 489–500.

Gurgel, R. S.; Pereira, D. Í. de M.; Garcia, A.V. F.; Souza, A. T. F. de; Silva, T. M.; Andrade, C. P. de; Silva, W. L.; Nunez, C. V.; Fantin, C.; Procópio, R. E. L.; Albuquerque, P. M. (2023). Antimicrobial and antioxidant activities of endophytic fungi associated with *Arrabidaea chica* (Bignoniaceae). *Journal of fungi*, v. 21, n. 8, p. 864. Doi: 10.3390/jof9080864.

Hammond, J. P.; White, P. J. (2008). Sucrose transport in the phloem: integrating root responses to phosphorus starvation. *Journal of Experimental Botany*, v. 59, n. 1, p. 93–109.

Henrique, C. Y.; Alves, O. J.; Silva, M. L. E.; Cunha, W. R.; Januario, A. H.; Pauletti, P. M. (2024). O gênero *Fridericia* (Bignoniaceae): Composição química e potencial biológico. *Química Nova*, v. 47, n. 1, e-20230088. <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20230088>

Hoagland, D. R.; Arnon, D. I. (1950). The water culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Station, San Francisco*, v. 347. p. 1-32.

Hofling, J. F.; Aniball, P. C.; Obando, G. A. P.; Furletti, V. F.; Foglio, M. A.; Gonçalves, R. (2010). Antimicrobial potential of some plant extracts against *Candida* species. *Revista Brasileira de Biologia*, São Carlos, v. 70, n. 4, p. 1065–1068.

Jamel, A. S.; Neto, J. P. de M.; Paula, E. V. de; Alexandre, C. N.; Queiroz, N. de C. A.; Foglio, M. A. (2024). Pharmacological potential of *Fridericia Chica*: traditional knowledge and chemical composition. *Peer Review*, v. 6, n. 3. p. 17–35. Doi: 10.53660/PRW-1788-3421

Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Flora do Brasil 2020 em construção. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br>. Acesso em: 01 ago. 2025.

Jorge, M. P. Atividade cicatrizante do extrato bruto de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) verlot. 2008a. 145 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas, Campinas, SP. Disponível em <http://www.repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/309829>. Acesso em: 20 de maio de 2025.

Jorhi, A. K.; Oelmuller, R.; D. M.; Yadav, V.; Kumar, M.; Tuteja, N.; Varma, A.; Bonfante, P.; Persson, B. L. Stroud, R. M. (2015). Fungal association and utilization of phosphate by plants: success, limitations, and future prospects. *Frontiers in Microbiology*. v. 6. 984. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00984>

Kaschuk, G.; Alberton, O.; Hungria, M. (2010). Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: lessons learned about soil quality and indications for improving sustainability. *Soil Biology & Biochemistry*, v. 42, n 1, p. 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.08.020>

Khammassi, M.; Migrei, H.; Ben M.; Khaldi, M.. (2022). Perfil metabólico e potencial atividade antioxidante de dezesseis populações de funcho (*Foeniculum vulgare* Mill.) crescendo selvagem na Tunísia. *South African Journal of Botany*. v. 148, p. 407414.

Kalil Filho, A. N.; Kalil, G. P. C.; Luz, A. I. R. (2000). Conservação de germoplasma de plantas aromáticas e medicinais da Amazônia brasileira para uso humano. *Ministério da Agricultura e do Abastecimento, Comunicado Técnico, Embrapa*, n. 50, p. 1–4.

Keymer, N.; Pimprikar, P.; Wewer, V.; Huber, C.; Mathias, M.; Bucerius, S. L.; Delaux, P.; Klingl, V.; Röpenack-Lahaye, E. V.; Wang, T. L.; Eisenreich, W.; Dörmann, P.; Parniske, M.; Gutjahr, C. (2017). Lipid transfer from plants to arbuscular mycorrhiza fungi. *eLife*, v. 6, p. 29107. <https://doi.org/10.7554/eLife.29107>

Koleva, I. I.; Josef, T. A. V. B.; Linssen, J. P. H.; Groot, A. de.; Evstatieva, L. N. (2002). Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis*. v. 13, n. 1, p. 8–17. Doi: 10.1002/pca.611

- Lermen, C.; Cruz, R. M. S. de Souza, J. S.; Marchi, B. A.; Alberton, O. (2017). Growth of *Lippia alba* (Mill.) NE Brown inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi with different levels of humic substances and phosphorus in the soil. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. v. 7, p. 48–53. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2017.05.002>
- Lima, R. L. F. A. (2020). Micorrizas arbusculares e absorção de fósforo em função da capacidade de fixação de fósforo do solo e da competição com a microbiota. *Revista Brasileira de Geografia Física*, v. 13, n. 3, p. 1062–1079. <https://doi.org/10.26848/rbgf.v13.3.p1062-1079>
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*. v. 148, p. 350–382. doi: 10.1016/0076-6879(87)48036-1
- Lichtenthaler, H. K.; Welburn, A. R. (1983). Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, v. 11, p. 591–592.
- Lobo, A. M.; Lourenço, A. M. (2007). *Biossíntese de produtos naturais*. IST Press, ISBN-10972846950:
- Lorenzi, H.; Matos, F. (2002). *Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas*, Instituto Plantarum, Nova Odessa, p. 85.
- Mafioleti, L.; da Silva Júnior, I. F.; Colodel, E. M.; Flach, A.; Martins, D. T. O. (2013). Evaluation of the toxicity and antimicrobial activity of hydroethanolic extract of *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verl. *Journal of ethnopharmacology*, v. 150, n. 2, p. 576–582. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2013.09.008>
- Maldonade, I. R.; Carvalho, P. G. B. de; Ferreira, N. A. (2013). Protocolo para determinação de açúcares totais em hortaliças pelo método de DNS. Embrapa, Comunicado técnico 85.
- Manoharan, P. T. (2010). Influence of AM fungi on the growth and physiological status of *Erythrina variegata* Linn. grown under different water stress conditions. *European Journal of Soil Biology*, v. 46, n. 2, p. 151–156, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2010.01.001>
- Martins, A. P. P.; Reissmann, C. B. (2007). Material vegetal e as rotinas laboratoriais nos procedimentos químico-analítico. *Scientia Agrária*, v. 8, n. 1, p. 1–17.
- Martins, M. C.; Garlet, T. M. B. (2016). Desenvolvendo e divulgando o conhecimento sobre plantas medicinais. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental*, v. 20, n. 1, p. 438-448. ISSN: 22361170.
- Mattos, L. M.; Moretti, C. L.; Muniz, L. B.; Silva, E. Y. Y. (2009). Protocolo de análise para determinação da atividade antioxidante total em hortaliças no sistema beta-caroteno/ácido linoléico. Embrapa Hortaliças-Comunicado Técnico. ISSN: 1414-9850.
- Medeiros, L. B. J.; Santos, C. K.; Jo, C. S. (2011). Liver protective activity of a hydroethanolic extract of *Arrabidaea chica* (Humb. and Bonpl.) B. Verl. (pariri). *Pharmacognosy Research*, v.3, p. 79–84.

Medeiros, A. G. A. P.; Vieira, O. A. G.; Beraldo, E. M. M.; Santos, do F. L. C.; Silveira, E. G.; Filho-Lima, de L. E.; Santana, S. de M. (2021). Plantão psicológico cognitivo-comportamental na pandemia da CoViD-19. *Revista Brasileira de Terapia Comportamental e Cognitiva*, v. 17, n. 1, p. 58–65. <https://doi.org/10.5935/1808-5687.20210008>

Meyers, P. S. (1994). Developments in world aquaculture, feed formulation and role of carotenoids. *International Union of Pure and Applied Chemistry*, Genebra, v. 66, n. 5, p. Editora e-Publicar – Ciências da saúde: Inovação, pesquisa e demandas populares, Volume 5.1701069-1076. Disponível em: <http://publications.iupac.org/pac/66/5/1069/cited_by/index.html>. Acesso em: nov. 2024.

Michel, A. F. R. M.; Melo, M. M.; Campos, P. P.; Oliveira, M. S.; Oliveira, F. A. S.; Cassali, G. D.; Ferraz, V. P.; Cota, B. B.; Andrade, S. P.; Souza-Fagundes, E. M. (2015). Evaluation of anti-inflammatory, antiangiogenic and antiproliferative activities of *Arrabidaea chica* crude extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 165, p. 29–38.

Minhoni, M. T. A.; Auler, P. A. M. (2003). Effect of phosphorus, soil fumigation and mycorrhizal colonization on papaya growth. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 27, n. 5, p. 841–847. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832003000500008>

Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, Tailândia, v. 26, n. 2, 211-19. Disponível em: <<http://www.thaiscience.info/journals/Article/SONG/104622423.pdf>> Acesso em 14 nov. 2024.

Moragas-Tellis, C. J.; Almeida-Souza, F.; Chagas, M. S. S.; Souza, P. V. R.; Silva-Silva, J. V.; Ramos, Y. J.; Moreira, D. L.; Calabrese, K. S.; Behrens, M. D. (2020). The influence of anthocyanidin profile on antileishmanial activity of *Arrabidaea chica* morphotypes. *Molecules*, v. 25, p. 3547.

Moreira, J. de B.; Holanda, N. A. de S.; Santiago, S. R. S. S.; Soares, E. R.; Almeida, R. A. de; Ohse, K. C.; Santiago, P. A. L. (2024). Bibliographic survey of chemical compounds with antioxidant and antimicrobial activity found in *Arrabidaea chica* (humb. & bonpl.) b. verlot (bignoniaceae). *Revista foco*, v. 17, n. 1, p. 1–17. Doi: 10.54751/revistafoco.v17n1-073

Mu, X.; Chen, Y. (2021). The physiological response of photosynthesis to nitrogen deficiency. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 158, p. 76–82. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.11.019>.

Nascimento, J. R.; Miranda, A. J. A.; Vieira, F. C.; Rodrigues, C. D. P.; Vasconcelos, L. N.; Filho, J. L. P.; Lopes, A. C. C. B.; Tangerina, M. M. P.; Vilegas, W.; Rocha, C. Q. (2022). A Review of the Phytochemistry and pharmacological properties of the genus *Arrabidaea*. *Pharmaceuticals*, 15, 658. <https://doi.org/10.3390/ph15060658>

Nelson, D. L.; Cox, M. M. (2014). *Princípios de bioquímica de Lehninger*. Artmed. 6 ed. p. 1292, 2014. ISBN-10 8582710720.

Neto, A. F. R.; Freitas, M. S. M.; Martins, M. A.; Carvalho, A. J. C.; Filho, J. A. V. (2014). Total phenols in *Passiflora alata* Curtis inoculated with mycorrhizal fungi. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. v. 16, n. 1. p. 1–9. Doi: <https://doi.org/10.1590/S1516-05722014000010>

Paula, J. T.; Sousa, I. M. O.; Foglio, M. A.; Cabral, F. A. (2018). Selective fractionation of extracts of *Arrabidaea chica* Verlot using supercritical carbon dioxide as antisolvent. *The Journal of Supercritical Fluids*. v. 133, p. 9–16. <http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2017.09.021>

Pedone-Bonfim, M.; Silva, F. S. B.; Maia, L. (2015). Production of secondary metabolites by mycorrhizal plants with medicinal or nutritional potential. *Acta Physiologia Plantarum*, v. 37, p. 27. <https://doi.org/10.1007/s11738-015-1781-3>

Pereira, C. M. R.; Goto, B. T.; da Silva, D. K. A.; de Souza, F. A.; da Silva, G. A.; Maia, L.; Oehl, F. (2015). *Acaulospora reducta* sp. nov. and *A. excavata* - two glomeromycota fungi with pitted spores from Brazil. *Mycotaxon*, v. 130, n. 4, p. 983–995. <https://doi.org/10.5248/130.983>

Peixoto, A. L.; Morim, M. P. (2003). Coleções Botânicas: documentação da Biodiversidade Brasileira. *Ciência e Cultura*, São Paulo, v. 55, n. 3. ID do corpus: 82217625.

Phillips, J. M.; Hayman, D.S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, v. 55, p. 157–160. [https://doi.org/10.1016/s0007-1536\(70\)80110-3](https://doi.org/10.1016/s0007-1536(70)80110-3)

Piriz, M. A.; Lima, C. A. B.; Jardim, V. M. R.; Mesquita, M. K.; Souza, A. D. Z.; Heck, R. M. (2015). Medicinal plants in the wound healing process: a literature review. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, v. 16, n. 3, p. 628–636. https://doi.org/10.1590/1983-084X/12_178

Pisoschi, A. M.; Pop, A.; Cimpeanu, C.; Predoi, G. (2016). Antioxidant capacity determination in plants and plant-derived products: A Review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2016, n. 1, p. 9130976. doi: 10.1155/2016/9130976

Punoševac, M.; Selgrad, J. R.; Leković, A.; Kundaković, T. (2021). Uma revisão das características botânicas, composição química, atividade farmacológica e uso da salsa. *Arquivo de farmácia*. v. 71, n. 3, p. 177–196. Doi: 10.5937/arhfarm71-30800

Qiao, X.; Bei, S.; LI, C.; Dong, Y., L. H.; Christie, P.; Zhang, F.; Zhang, J. (2015). Enhancement of faba bean competitive ability by arbuscular mycorrhizal fungi is highly correlated with dynamic nutrient acquisition by competing wheat. *Scientific Reports*. v. 5, p. 8122. doi: 10.1038/srep08122

Reetz Júnior, H. F. (2017). Fertilizers and their efficient use. *International Fertilizer Industry Association (IFA), ANDA*, p.178. ISBN 979-10-92366-04-4.

Rêgo, G. M.; Possamai, E. (2004). Avaliação dos teores de clorofila no crescimento de mudas do Jequitibá-Rosa (*Cariniana legalis*), Comunicado Técnico-Embrapa. ISSN 1517-5030.

Ribeiro, E. R.; Soares, E. R.; Freitas, F. das C. O.; Júnior, F. das C. O. F.; de Souza, M. de F.; Oliveira, F. das C. (2008). Atividade antimicrobiana de *Arrabidaea chica* contra microrganismos patogênicos. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, v. 10, n. 2, p. 123–130.

Ribeiro, A. F. C. (2012). Avaliação das atividades anti-inflamatória, antiangiogênica e antitumoral de extratos da *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlot. Tese doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais.

Rocha, K. B. F.; Oliveira, C. N.; Azevedo, Í. M.; de Macedo, R.; Medeiros, Al. C. (2019). Effect of *Arrabidaea chica* extract against chemically induced breast cancer in animal model. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v. 34, n. 10, p. e201901001 <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-865020190100000001>

Rolim, C. C.; Andrade, J. S. (2022). Dieta saudável na Amazônia com nutrientes e substâncias bioativas a partir dos frutos tropicais. *Research Society and Development*, v. 11, n. 15. e521111537494. Doi: 10.33448/rsd-v11i15.37494

Rufino, M. D. S. M.; Alves, R. E.; Brito, E. S. de; Morais, S. M. de; Sampaio, C. G. Pérez-Jiménez, J.; Saura-Calixto, F. D. (2006). Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E).

Sainz, M. J.; Arines, J. (1988). P absorbed from soil by mycorrhizal red clover plants as affected by soluble P fertilization. *Soil Biology & Biochemistry*, v. 1, n. 20, p. 61–67. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(88\)90127-7](https://doi.org/10.1016/0038-0717(88)90127-7)

Santos, L. R.; Guimarães, J. L. C.; Nobre, M. S. de C.; Portela, A. S. P. (2011). Analysis about phytotherapy as an integrating practice in the Brazilian Unified Health System (UHS). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 13, n. 4. p. 486–491. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722011000400014>

Santos, V. C.; Longo, T. B.; Garcia, A. L. H.; Richter, M. F.; Guecheva, T. N.; Henriques, J. A. P.; Ferraz, A. de B. F.; Picadal, J. N. (2013). Evaluation of the mutagenicity and genotoxicity of *Arrabidaea chica* Verlot. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, v. 76, n. 6, p. 381–390. Doi: 10.1080/15287394.2012.761947

Santos, R. P. (2015). Extração, caracterização e avaliação bioativa do extrato de *Arrabidaea chica* Humb. & Bompl. Verlot. 89 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Rio Grande do Norte, 2015. Disponível em <[http://www.repositorio.ufrn.br:8080/jspui/bitstream/123456789/20164/1/Rog erioPitangaSant_DISSERT.pdf](http://www.repositorio.ufrn.br:8080/jspui/bitstream/123456789/20164/1/Rog%20erioPitangaSant_DISSERT.pdf)>. Acesso em: 13 nov. 2024.

Santos, K. A.; Klein, E. J.; Gazim, Z. C.; Gonçalves, J. E.; Cardozo-Filho, L.; Corazza, M. L.; Silva, E. A. (2016). Wood and industrial residue of candeia (*Eremanthus erythopappus*): Supercritical CO₂ oil extraction, composition, antioxidant activity and mathematical modeling. *The Journal of Supercritical Fluids*, v. 114, p. 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2016.02.015>

Santos, A. A.; Deoti, J. R.; Müller, G.; Dário, M. G.; Stambuk, B. U.; Alves Junior, S. L. (2017). Microwell plate-based method for the determination of reducing sugars with the DNS reagent. *Brazilian Journal of Food Technology*. v. 20. e2015113. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.11315>

Sasabuchi, I. T. M.; Krieger, K. S.; Nunes, R. S.; Ferreira, A. C.; Xavier, G. T. M.; Urzedo, A. L.; Carvalho, W. A.; Fadini, P. S. (2022). Sustentabilidade no uso de Fósforo: Uma revisão

bibliográfica com foco na situação atual do Estado de São Paulo, Brasil. *Química Nova*, v. 46, n. 2, p. 185–198.

Silva, R. B. L. (2002). A etnobotânica de plantas medicinais da comunidade quilombolas de Curiaú. Universidade Federal da Amazônia, Belém.

Silva, C. F. (2009). In: Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes, 2.^a ed., Brasília, DF: Embrapa.

Silva, B.; Oliver, C. O.; Cruz, R. M. S.; Marchi, B. de A.; Almas, L. R. M.; Alberton, O. (2017). Resposta do fungo micorrízico arbuscular *Rhizophagus clarus* e adição de substâncias húmicas no crescimento do tomateiro. *Scientia Agraria*, v. 18, n. 3, p. 123–130. Doi: <https://doi.org/10.0rg/10.5380/rsa.v18i3.52888>

Silva, L. W. S.; Pamponet, L. S. (2022). Saberes populares no uso de plantas medicinais: tradição de valor familiar na convergência aos saberes científicos. *Revista Revise*, v. 9, p. 325–351.

Simões, A. L. A.; Rodrigues, F. R.; Tavares, D. M. S.; Rodrigues, L. R. (2007). Humanization in health care: focus on primary, Humanização na saúde: enfoque na atenção primária, v.3, n. 16, p. 439–444.

Siraich, J. T. G.; Felipe, D. F. F.; Brambilla, L. Z. S.; Gatto, M. J.; Terra, V. A.; Cecchini, A. L.; Cortez, L. E. R.; Filho, E. R.; Cortez, D. A. G. (2013). Antioxidant capacity of the leaf extract obtained from *Arrabidaea chica* cultivated in Southern Brazil. *PLoS ONE*, v. 8, n. 8, p. 727–733.

Siqueira, F. C.; Leitão, D. do S. T. C.; Mercadante, A. Z.; Chité, R. C.; Lopes, A. S. (2019). Profile of phenolic compounds and carotenoids of *Arrabidaea chica* leaves and the in vitro singlet oxygen quenching capacity of their hydrophilic extract. *Food Research International*, v. 126. e108597.

Souza, P. V. R.; Martins, V. G. F. C.; Chagas, M. do S. S.; Moragas-Tellis, C. J.; Behrens, M. D.; Moreira, D. L. (2023). Validation of a new HPLC-DAD method to quantify 3-deoxyanthocyanidins based on carajurin in medicinal plants and for chemical ecology studies. *Plants*, v. 12, n. 5, p. 1057. <https://doi.org/10.3390/plants12051057>

Schiozer, A. L. (2017). Caracterização química, estudo da estabilidade e atividade biológica de extratos das folhas de *Arrabidaea chica* Verlot. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas. 158p. <https://doi.org/10.47749/T/UNICAMP.2017.990783>

Schüßler, A.; Schwarzott, D.; Walker, C. (2001). A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research*, v. 105, n. 12, p. 1413–1421.

Scrase, F. L.; Sinclair, J. F.; Farrar, P. S.; Pavinato, F. M.; Jones, D. L. (2019). Mycorrhizas improve the absorption of non-available phosphorus by the green manure *Tithonia diversifolia* in poor soils. *Rhizosphere*, v. 9, p. 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2018.11.001>

Smith, S. E.; Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal symbiosis*. 3^a ed. London: Academic Press. p. 815. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370526-6.X5001-6.S>

Smith, S. E.; Jakobsen, I.; Grronlund, M.; Smith, F. A. (2011). Roles of arbuscular mycorrhizas in plant phosphorus nutrition: interactions between pathways of phosphorus uptake in arbuscular mycorrhizal roots have important implications for understanding and manipulating plant phosphorus acquisition. *Plant Physiology*, v. 156, p. 1050–1057.

Smith, D.L.; Praslickova, D.; Ilangumaran G. (2015). Inter-organismal signaling and management of the phytomicrobiome. *Front Plant Science*. v. 6, p. 722. doi: 10.3389/fpls.2015.00722

StatSoft (2017). Electronic statistics textbook, Tulsa, OK: StatSoft. Available from: <http://www.statsoft.com/textbook/>.

Stürmer, S. L.; Siqueira, J. O. Fungos Micorrízicos. In: Moreira, F.; Cares, J. E.; Zanetti, R.; Stürmer, S. L. (2013). *O Ecossistema solo: componentes, relações ecológicas e efeitos na produção vegetal*. UFLA, p. 289-311. ISBN: 978-85-8127-023-4.

Spréa, R. M. (2020). Avaliação da composição química e a atividade biológica de *Levisticum officinale* W. D. J. Koch. 109 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Instituto Politécnico de Bragança. Disponível em: <<http://bibliotecadigital.ipb.pt/handle/10198/22936>>. Acesso em 20 ago. 2025.

Svenningsen, N. B.; Watts, W., S. J.; Joner, E. J.; Battini, F.; Efthymiou, A., Cruz, P.C.; Nybro, O.; Jakobsen, I. (2018). Suppression of the activity of arbuscular mycorrhizal fungi by the soil microbiota. *The ISME Journal: Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology*, v. 12, p. 1296–1307.

Taffarello, D.; Jorge, M. P.; Sousa, I. O.; Duarte, M. C. T.; Figueira, G. M; Queiroz, N. C. A.; Rodrigues, R. A. F.; Carvalho, J. E.; Ruiz, A. L. T. G.; Foglio, M. A. (2013). Atividade de extratos de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) Verlot obtidos por processos biotecnológicos sobre a proliferação de fibroblastos e células tumorais humanas. *Química Nova*, v. 36, n. 3, p. 431–436.

Tate, K. R.; Ross, D. J.; Feltham, C. W. (1988). A direct extraction method to estimate soil microbial-C: Effects of experimental variables and some different calibration procedures. *Soil Biology & Biochemistry*. v. 20, p. 329–335.

Taiz, L.; Zeiger, E. (2004). *Plant Physiology*. Massachusetts: Sinauer Associates.

Takenaka, I. K. T. M.; Amorim, J. M.; Barros, P. A. V.; Brandão, G. C.; Contarini, A. M. L.; Melo, É. L. S. S.; Almeida-Leite, C. M.; Martins, F. S.; Cardoso, V. N.; Castilho, R. O.; Fernandes, S. O. A. (2020). Chemical characterization and anti-inflammatory assessment of the hydroethanolic extract of *Fridericia chica*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 30, p. 559–567. <https://doi.org/10.1007/s43450-020-00085-7>

Tedersoo, L.; Ramírez, S.; Goto, B. T.; Jobim, K. (2020). Laboratório de Biologia de Micorrizas. Disponível em: < <http://glomeromycota.wixsite.com/lbmicorrizas> >. Acesso em: 19 ago 2024.

Urcoviche, R. C.; Gazim, Z. C.; Dragunski, D. C.; Barcellos, F. G.; Alberton, O. (2015). Plant growth and essential oil content of *Mentha crispa* inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi under different levels of phosphorus. *Industrial Crops and Products*, v. 67, p. 103–107.

Vance, E. D.; Brookes, P. C.; Jenkinson, D. S. (1987). An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology & Biochemistry*. v. 19, p. 703–707.

Vasconcelos, C. C.; Lopes, A. J. O.; Ataíde, E. J.; Carvalho, K. W. P.; Brito, M. F. F.; Rodrigues, M. S.; Morais, S. V. E.; Silva, G. E. B.; Rocha, C. Q.; Garcia, J. B. S.; Cartágenes, M. S. S. (2021). *Arrabidaea chica* Verlot fractions reduce MIA-induced osteoarthritis progression in rat knees. *Inflammopharmacol*, v. 29, p. 735–752. <https://doi.org/10.1007/s10787-021-00803-0>

Violante, I. M. P.; Carollo, C. A.; Silva, L. I.; Oliveira, A. Q. C.; Pardino, F. C.; Garcez, W. S.; Garcez, F. R.; Arunachalam, K.; Martins, D. T. O. (2020) Cytotoxicity and antibacterial activity of scutellarein and carajurone-enriched fraction obtained from the hydroethanolic extract of the leaves of *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann. *Natural Product Research*. v. 35, n. 23, p. 5287–5293. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1753050>

Waterhouse, A. L. (2002). Polyphenolics: Determination of total phenolics. In: Wrolstad, R. E. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. New York: John Wiley & Sons, Cap. 1.1, p. 111–118.

Zago, P. M. W.; Sousa, I. M. O.; Medina, L. S.; Jorge, M. P.; Neto, L. G. L.; Hass, V.; Li, X.; Ruiz, A. L. T. G.; Saxena, D.; Foglio, M. A. (2020). Standardized *Arrabidaea chica* extract shows cytoprotective effects in zoledronic acid-treated fibroblasts and osteoblasts. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dentistry*, v. 12, p. 327–333.

Zorn, B.; Garcia, P. A.; Castro, V.; Murillo, R.; Mora, G.; Merfort, I. I. (2001). 3-Desoxyanthocyanidins from *Arrabidaea chica*. *Phytochemistry*, São Paulo, v. 56, n. 8, p. 831–835. Doi:10.1016/S0031-9422(01)00038-3

Zou, Y.; Zhang, D.; Liu, C.; Wu, Q. (2019). Relationships between mycorrhizae and root hairs. *Pakistan Journal of Botany*, v. 2, n. 51, p. 727–733.

CAPÍTULO II

Crescimento e qualidade bioquímica de *Levisticum officinale* Koch inoculada com fungos micorrízicos arbusculares e *Azospirillum brasilense*

RESUMO

Levisticum officinale é uma planta aromática, condimentar e medicinal da família Apiaceae. Este estudo teve como objetivo avaliar as respostas agronômicas e bioquímicas da planta frente a inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) *Rhizophagus clarus*, *Claroideoglossum etunicatum* e *Azospirillum brasilense*. O experimento foi realizado com delineamento inteiramente casualizado, sendo um fatorial 4x2 (sem e com os FMAs e combinação de dois FMAs e *A. brasilense*), com 8 repetições, totalizando 64 unidades experimentais. Foram realizadas análises agronômicas como colonização radicular, respiração basal do solo e carbono de biomassa microbiana, massa fresca da raiz e da parte aérea, massa fresca total, massa seca da raiz e parte aérea, massa seca total, nitrogênio (N) e fósforo (P) da parte aérea. Os resultados indicaram significância para o tratamento T7, embora o quociente metabólico controle tenha sido alto, isso expressa uma baixa presença de microrganismos no solo. O tratamento T6 apresentou maiores valores de massa seca da raiz (6,09), enquanto o índice de balanço de N foi mais elevado no tratamento T2 (205,56). As análises bioquímicas revelaram variações nos tratamentos T7 apresentando maior valor de significância para altura (33,98), índice de clorofila (79,32), açúcar total (35,07) e açúcar não redutor (30,71) e o tratamento T5 teve como destaque as variáveis clorofila a (48,89), clorofila b (37,06), clorofila total (85,95), composto fenólico total (1,64) e atividade antioxidante por meio do DPPH (9,87) aumentando significativamente. Já o tratamento T6 elevou os níveis de açúcar redutor (7,60). O tratamento T4 estimulou a produção de β -caroteno (84,95) e caroteno total T4 (39,93), enquanto T3 apresentou o maior valor de significância para flavonoides (445,96), antocianinas (67,07) e a capacidade antioxidante pelo método FRAP (4,99). A interação entre os FMAs e *A. brasilense* demonstrou efeitos positivos e complementares, evidenciando seu potencial como agentes bioestimulantes e biofertilizantes, representando uma estratégia promissora para o incremento da produtividade vegetal e para o desenvolvimento de práticas agrícolas mais sustentáveis.

Palavras-chave: biofertilizante, micorriza, simbiose.

Growth and biochemical quality of *Levisticum officinale* Koch inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and *Azospirillum brasilense*

ABSTRACT

Levisticum officinale is an aromatic, condiment, and medicinal plant of the Apiaceae family. This study aimed to evaluate the agronomic and biochemical responses of the plant to inoculation with the arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) *Rhizophagus clarus*, *Claroideoglossum etunicatum*, and *Azospirillum brasilense*. The experiment was conducted in a completely randomized design, with a 4x2 factorial (without and with AMF, and a combination of two AMF and *A. brasilense*), with 8 replicates, totaling 64 experimental units. Agronomic analyses were performed, including root colonization, basal soil respiration, microbial biomass carbon, root and shoot fresh mass, total fresh mass, root and shoot dry mass, total dry mass, shoot nitrogen (N), and phosphorus (P). The results indicated significance for the T7 treatment, although the control metabolic quotient was high, which expresses a low presence of microorganisms in the soil. The T6 treatment presented higher values of root dry mass (6.09), while the N balance index was higher in the T2 treatment (205.56). Biochemical analyses revealed variations in T7 treatments, presenting a higher significance value for height (33.98), chlorophyll index (79.32), total sugar (35.07), and non-reducing sugar (30.71), and T5 treatment highlighted the variables chlorophyll a (48.89), chlorophyll b (37.06), total chlorophyll (85.95), total phenolic compound (1.64), and antioxidant activity through DPPH (9.87), increasing significantly. T6 treatment reduced sugar levels (7.60). The T4 treatment stimulated the production of β -carotene (84.95) and total carotene T4 (39.93), while T3 presented the highest significance value for flavonoids (445.96), anthocyanins (67.07) and antioxidant capacity by the FRAP method (4.99). The interaction between AMF and *A. brasilense* demonstrated positive and complementary effects, evidencing their potential as biostimulant and biofertilizer agents, representing a promising strategy for increasing plant productivity and developing more sustainable agricultural practices.

Keywords: biofertilizer, mycorrhiza, symbiosis.

1. INTRODUÇÃO

A história humana é marcada por jornadas de descoberta, inovação e transformação, especialmente no que se refere às plantas medicinais. Ao longo dos anos, essas plantas têm sido valorizadas como fontes ricas de metabólitos secundários, amplamente utilizados na medicina tradicional por suas propriedades terapêuticas (Chaachouay, 2024). Além de atuarem como potentes antioxidantes, desempenham um papel essencial na neutralização de radicais livres (Kadam *et al.*, 2023; Al-Snafi *et al.*, 2017). Muitas plantas também possuem aplicações culinárias, oferecendo alternativas sustentáveis que aliam saúde e preservação ambiental (Abdallah, 2023).

Diante desse contexto, temos em destaque nesse estudo a planta perene *Levisticum officinale*, pertencente à família Apiaceae (Umbelífera), que abriga mais de 3.000 espécies distribuídas em mais de 400 gêneros (Punoševac *et al.*, 2021; Khammassi *et al.*, 2022). Popularmente conhecida como knorr, ligústica, podendo atingir 2 m de altura, apresenta folhas verdes brilhantes, com ramos divididos e recortados. Sua raiz, de coloração cinzenta acastanhada, tem sido utilizada há séculos na culinária, medicina e indústria alimentícia (Szparaga, 2023) devido ao seu sabor e aroma característicos (Spréa *et al.*, 2020a).

Rica em fontes de metabólitos secundários, essa planta contém fitoquímicos com potencial para promover a saúde humana, além de aplicações agroquímicas, despertando crescente interesse nos últimos anos. Sua composição inclui saponinas, flavonoides, taninos, ácidos fenólicos, poliacetilenos, esteróides e vitamina C e E, cumarinas, taninos, amidos, sais minerais (Tuncturk, 2015; Spréa *et al.*, 2020a, b). Olennikov (2022), ao estudar as cumarinas das raízes de *L. officinale*, analisando seu perfil por LC-MS, quantificação e estabilidade durante o armazenamento pós-colheita, constatou que essa hortaliça aromática e condimentar acumula não apenas ftalídeos e compostos voláteis, mas também cumarinas, tornando uma planta apiacea valiosa para o uso alimentar e medicinal.

Além disso, seus terpenoides, como α -pineno, β -pineno, mirceno e limoneno, demonstram efeitos anticancerígenos e apoptóticos, sendo também os principais responsáveis pelo aroma e sabor da planta. Destacam-se ainda as ftalimidas, que apresentam propriedades antibacterianas, antifúngicas, anti-inflamatórias, antioxidantes, antitumorais, além de efeitos espasmolíticos, carminativos, diuréticos (Santos *et al.*, 2013; Jakubczyk *et al.*, 2020; Sahlabgi *et al.*, 2025).

Amplamente encontrada em países europeus como Irã e Afeganistão (Ghaedi, 2020), além de diversas regiões da Ásia e da América do Norte (Kemzuraite, 2014; Georgieva, 2023),

essa planta possui uma longa história de uso. Segundo Khodashenas *et al.* (2015), os egípcios costumavam utilizá-la como acompanhamento em peixe grelhado, carnes e guisados. De acordo com Botelho (2022), o médico e botânico Dioscórides iniciou seu cultivo em jardins de conventos. Já em 1735, o irlandês Koch relatou seus benefícios para a digestão, além de propriedades diuréticas e emenagogas, também descreveu seu uso para melhorar a visão e remover sinais de sardas e vermelhidão do rosto.

Estudos sobre o agro potencial do extrato de *L. officinale* indicam que seus componentes bioativos desempenharam um papel essencial no crescimento e metabolismo do vegetal, promovendo o aumento do número de vagens por planta de soja e elevando sua produtividade após a aplicação do macerado do extrato (Szparaga, 2023).

Essa evidência abre caminho para aplicações agrícolas promissoras, especialmente no contexto da bioestimulação, podendo ser utilizada como biofertilizante natural, atuando na ativação de vias metabólicas relacionadas às sínteses de hormônios vegetativos, como auxinas e citocininas, que regulam o desenvolvimento e a formação de estruturas reprodutivas (Abdallah *et al.*, 2023). Além disso, seus compostos antioxidantes contribuem para a resiliência das plantas frente a estresses abióticos, como seca, salinidade e variações térmicas, fortalecendo os mecanismos de defesa celular.

Além de apresentar um grande potencial antioxidante, essa propriedade se revela promissora para fortalecer a tolerância das plantas às mudanças climáticas, exercendo efeitos fitoprotetores e bioestimulantes (Parvin *et al.*, 2022). Plawgo *et al.* (2024) constataram em seu estudo sobre a otimização multiobjetivo da extração verde de *L. officinale* que o método de extração convencional, dispensando o uso de solventes nocivos ao meio ambiente, pode ser aplicado no desenvolvimento de novas formulações de bioestimulantes para a agricultura, alimentos funcionais e cosméticos naturais. Vale destacar que as raízes de *L. officinale* são conhecidas por sua alta concentração de óleos essenciais, especialmente monoterpenos e ftalídeos (Spréa *et al.*, 2020a).

Outro fator relevante para o desenvolvimento das plantas é a interação com fungos micorrízicos arbusculares (FMA), visto que estabelecem uma associação simbiótica mutualística com suas raízes (Smith, 2008). Esses fungos dependem da planta para obter energia, carboidratos e vitaminas, já que não são capazes de sintetizar certos compostos por conta própria. Em contrapartida, a planta adquire esses nutrientes por meio da fotossíntese e de outras reações metabólicas.

Paralelamente, os FMAs fornecem à planta nutrientes minerais essenciais, especialmente aqueles de baixa mobilidade, como fósforo e água (Brundrett, 2009; Harrison,

2005), contribuindo de forma significativa para o equilíbrio ecológico dos ecossistemas do solo (Berruti *et al.*, 2016). No entanto, essa interação pode ser afetada pelo manejo adotado no sistema de plantio (Ferreira; Carneiro; Junior, 2012).

Atualmente, os FMAs são reconhecidos como componentes biológicos indispensáveis para agricultura orgânica sustentável (George e Ray, 2023), sendo essenciais para diversas culturas, incluindo o arroz cultivado tanto em terras altas quanto em áreas úmidas.

Outro microrganismo de destaque para as plantas, sendo do gênero *Rhodospirillales*, é a bactéria *Azospirillum brasilense*, amplamente reconhecida como rizobactérias promotora de crescimento vegetal (RPCV), além de ser associada à fixação biológica de nitrogênio (FBN) e à produção de fitohormônios (Cassán *et al.*, 2020). Desde sua autorização oficial como princípio ativo de inoculantes em 2010, essa bactéria tem sido extensivamente utilizada no Brasil como bioinsumo para impulsionar a produtividade agrícola (Hungria, 2022).

Assim como os FMAs, a bactéria *A. brasilense*, visa promover o rendimento e o crescimento das plantas (Pagnussat *et al.*, 2023). Com os avanços na pesquisa sobre microrganismos promotores de crescimento, essa área tem ganhado destaque, impulsionando novas descobertas (Botelho; Silva, 2023). Esses microrganismos potencializam o crescimento vegetativo, ao fornecer nitrogênio (N), fósforo (P) e minerais essenciais, por meio de processos como biossíntese, da regulação de níveis hormonais e indiretamente, pela mitigação dos efeitos inibitórios de diversos fitopatógenos.

Além disso, contribuem para o desenvolvimento de agentes de controle biológico. Entre seus mecanismos de ação estão a fixação eficiente de N atmosférico, o aumento da atividade do nitrato redutase em plantas que crescem endofiticamente, a produção de hormônios como auxinas, citocininas, giberelinas, etileno, bem como a solubilização de P. Esses fatores favorecem associações micorrízicas benéficas e oferecem proteção contra microrganismos fitopatógenos presentes no solo (Ahemad *et al.*, 2014).

Conforme observado por Jacoby *et al.* (2017), a interação de microrganismos eficientes, como FMAs e bactérias simbióticas fixadoras de N, como *A. brasilense*, representa uma estratégia promissora para reduzir o uso de fertilizantes químicos, promovendo benefícios essenciais à agricultura sustentável e ao manejo do solo.

Apesar de ainda serem escassos os estudos envolvendo a interação de *L. officinale* com FMAs e bactérias promotoras de crescimento, este trabalho tem como objetivo avaliar os efeitos da inoculação dos FMAs *Rhizophagus clarus*, *Claroideoglossum etunicatum* bem como sua associação com *A. brasilense* sobre o crescimento, desenvolvimento, características bioquímicas e atividade antioxidante de *L. officinale*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Design experimental

As amostras foram adquiridas na casa agropecuária no Município de Palotina-Paraná, originárias do viveiro Agrodomus localizado em Cascavel-Paraná, registrado sob código RENASEM.PR.15791/2017 referente ao registro no Registro Nacional de Sementes e Mudanças mantido pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) do Brasil. As amostras foram cultivadas por 131 dias no Horto Medicinal da UNIPAR – Umuarama, situado a uma latitude de 23° 46' 09,1 e longitude de 53° 16' 38,4, com altitude de 442 m. O experimento foi conduzido em um local específico equipado com sombrite de 0,3 milímetros, sendo irrigado todos os dias, exceto em dias chuvosos.

As plantas foram transplantadas em vasos de plástico com capacidade de 3 L, uma mistura (substrato) contendo 50% de substrato orgânico + areia + Biomix® (1:1). O substrato foi colocado dentro de dois sacos plásticos preto e fumigado com 10 mL de clorofórmio (CHCl₃) kg⁻¹ de substrato de acordo com o método adaptado (Endlweber e Scheu, 2006), após misturado o CHCl₃ ao solo os sacos foram hermeticamente fechados e deixados fumigando por três dias. Após o período, os sacos ficaram abertos dentro de uma câmara de exaustão química e após sete dias o transplante das mudas.

Em cada vaso foi realizado o plantio de uma muda de *L. officinale* e inoculado com aproximadamente 200 esporos dos FMAs de *R. clarus* e/ou *C. etunicatum* provenientes do banco de Glomales da UNIPAR nos tratamentos com inoculação, bem como 1 mL de *A. brasilense* (2,0 x 10⁸ UFC mL⁻¹).

Foram divididos em 8 tratamentos com 8 repetições:

Tratamento 1: Controle.

Tratamento 2: *A. brasilense*

Tratamento 3: *R. clarus*

Tratamento 4: *C. etunicatum*

Tratamento 5: *R. clarus* + *C. etunicatum*

Tratamento 6: *R. clarus* + *A. brasilense*

Tratamento 7: *C. etunicatum* + *A. brasilense*

Tratamento 8: *R. clarus* + *C. etunicatum* + *A. brasilense*

Porém, o tratamento controle T2 com inóculo de *A. brasilense* não gerou dados para análises (as plantas morreram). Para análise e discussão os tratamentos ficaram da seguinte forma:

Tratamento 1: Controle.

Tratamento 2: *R. clarus*

Tratamento 3: *C. etunicatum*

Tratamento 4: *R. clarus* + *C. etunicatum*

Tratamento 5: *R. clarus* + *A. brasilense*

Tratamento 6: *C. etunicatum* + *A. brasilense*

Tratamento 7: *R. clarus* + *C. etunicatum* + *A. brasilense*

2.2. Densidade de esporos

Os esporos dos FMAs foram extraídos de subamostras de 10 g de solo pela metodologia de peneiramento úmido em malha de 0,710 mm e 0,053 mm (Gerdemann *et al.*, 1963), submetidos à centrifugação em água (3000 rpm por 3 min) e em sacarose 50% (2000 rpm por 2 min) e novamente peneirados em malha de 0,053 mm.

Para a contagem e identificação, foram transferidos para placas de Petri e contados em microscópio estereoscópico (aumento de 40x) (Ferrari *et al.*, 2020).

2.3. Colonização radicular de fungo micorrízico arbuscular

Amostras das raízes finas das plantas envolvidas no experimento, inicialmente foram enxaguadas com água corrente, cortadas no comprimento de 1 a 2 cm, clareadas em KOH 10% (90 °C por 1 h). Em seguida, lavadas novamente e acidificadas com HCl 5% (90 °C por 30 min.) e enxaguadas em água corrente.

Foi adicionado em solução de azul de tripano (Trypan Blue) 0,05% e incubado em banho-maria (90 °C por 30 min.). As raízes coradas foram preservadas em lactoglicerol, conforme a técnica de Phillips e Hayman (1970) até o momento da montagem das lâminas.

A verificação de segmentos colonizados foi de três raízes com cerca de 3 cm cada uma e colocadas em lâminas, sobrepostas por lamínulas e contados 100 segmentos (Giovanetti; Mosse, 1980), sob microscópio estereoscópico (40x–100x) identificando local colonizado, hifa, arbúsculo e vesícula.

A colonização radicular total por FMAs foi transformada pela equação:

$$Col.t = (\text{ArcSen } \sqrt{Col.(\%)/100}).(180/\pi) \text{ para normalização dos dados.}$$

No qual Col.t é colonização total; (%) porcentagem; Pi (π) proporção numérica originada da relação entre as grandezas do perímetro de uma circunferência e seu diâmetro com valor de 3,14.

2.4. Determinação da respiração basal do solo e quociente metabólico do solo

A respiração basal do solo (BSR) foi determinada de acordo com Jenkinson e Powlson (1976), utilizando 30 g de amostra de solo e colocando no interior do frasco de 500 mL do tipo de conserva. Em seguida, foram colocados 30 mL de NaOH 1 mol L⁻¹ dentro de um frasco de 30 mL. Foi utilizado um frasco contendo apenas NaOH como prova em branco (PB), sem solo e todos fechados hermeticamente.

Após 7 dias, foi retirado o frasco contendo NaOH e adicionados 2 mL de uma solução de cloreto de bário (BaCl₂) a 10% e 3 gotas de fenolftaleína (solução alcoólica a 3%) em cada frasco. Foi titulado o NaOH com HCl de normalidade conhecida de 0,5 mol L⁻¹.

Para calcular o CO₂ liberado foi utilizada a equação: $\text{mg CO}_2 \text{ kg solo}^{-1} \text{ hora}^{-1} = (((B-V) \cdot M \cdot E \cdot 1000)/PS)/T$

Onde: B = volume de HCl usado para titular o NaOH da prova em branco (PB); V = volume de HCl usado para titular o NaOH do tratamento; M = molaridade do HCl; E = equivalência grama de carbono = 6; 1000 = transformar g em kg de solo; PS = peso do solo seco em gramas e T = tempo de incubação em horas.

O quociente metabólico foi calculado a partir da razão entre a respiração basal e o carbono da biomassa microbiana; o quociente microbiano foi obtido a partir da razão entre o carbono microbiano e o carbono total, conforme descrito por Silva *et al.* (2007). O cálculo $q\text{CO}_2$ da respiração basal do solo é dado pela equação: $q\text{CO}_2 \text{ (mg C - CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ BMS - C h}^{-1}) = \text{RBS (mg C - CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ solo h}^{-1}) / \text{BMS-C (mg C kg}^{-1} \text{ solo)} \times 10^{-3}$, onde $q\text{CO}_2$: quociente metabólico do solo; RBS: respiração basal do solo e BMS-C: carbono da biomassa microbiana.

2.5. Carbono da biomassa microbiana do solo

O carbono da biomassa microbiana do solo (CBM) foi determinado pelo método de fumigação-extração proposto por Vance *et al.* (1987) e modificado por Tate *et al.* (1988). O CBM extraído foi estimado de acordo para Lermen *et al.* (2017) e Ferrari *et al.* (2020). As

amostras foram analisadas em triplicata, em que cada amostra foi dividida em sete subamostras de 10 g (três fumigadas, três não fumigadas e uma para obtenção da umidade do solo), devidamente pesadas e acondicionadas em frascos de vidro de 100 mL.

O processo de extração das amostras fumigadas ocorreu após 24 horas de fumigação, em seguida, a eliminação dos resíduos de clorofórmio e das não fumigadas. Em seguida, adicionou-se 50 mL de solução 0,5 M de sulfato de potássio (K_2SO_4). Agitado por 30 minutos, esperando decantar por 30 minutos e transferindo o sobrenadante com o auxílio de uma pipeta para um filtro de papel acoplado ao funil e tubo de 50 mL. Ao final da filtragem, foi obtido o extrato de cada subamostra (fumigada ou não fumigada).

Em seguida, foram transferidos 8 mL do extrato previamente filtrado para um Erlenmeyer de 250 mL e foram adicionados 2 mL de solução 0,066 M de dicromato de potássio, 10 mL de ácido sulfúrico P.A. e 5 mL de ácido orto-fosfórico P.A., todos com o auxílio de dispensador e ordem cronológica. Após esfriar, foram adicionados 70 mL de água deionizada, à espera de esfriar novamente, e foram adicionadas 4 gotas de difenilamina e foi realizada a titulação sob agitação magnética com uma solução 0,033 M de sulfato ferroso amoniacal. Mudando de coloração passando da cor púrpura para verde.

O cálculo foi realizado pela Equação 5 utilizando $K_c = 0,33$, conforme descrito por Sparling e West (1988): $BMS-C$ (mg C microbiano kg^{-1} solo) = $FC \times K_c^{-1}$, onde BMS-C: carbono da biomassa microbiana do solo em mg de C por kg de solo, podendo ser μg^{-1} ; FC: fluxo obtido da diferença entre a quantidade de C ($mg\ kg^{-1}$); K_c : fator de correção.

2.6. Altura e determinação da massa seca da planta

A altura da planta foi medida manualmente com auxílio de uma fita métrica.

As raízes e a parte aérea das plantas foram separadas e pesadas a massa frescas e após foram secas em estufa com circulação de ar forçada à 65 °C por 48 h. Em seguida, foi determinada a massa seca da parte aérea (MSPA), a massa seca das raízes (MSR) e a massa seca total (MST) por meio da pesagem com balança semi-analítica.

2.7. Nitrogênio da parte aérea e Índice de balanço de nitrogênio

A determinação do N da parte aérea (NPA), bem como índice de balanço de N (NBI), foi realizado por meio da digestão sulfúrica de 0,2 g das folhas a 450 °C, seguido pelo método

Kjeldahl de destilação e titulação com $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl (Silva, 2009; Lermen *et al.*, 2017), sendo o N quantificado por titulação, após procedimento de destilação por arraste a vapor.

Foram pesadas aproximadamente 200 mg de matéria seca moída e colocada em um tubo de ensaio para digestão, acrescentando 700 mg da mistura digestora e 5 mL de ácido sulfúrico. Em seguida, acondicionado em capela até atingir os $450 \text{ }^\circ\text{C}$ para fazer a digestão até a amostra atingir a coloração branca, em seguida, adicionado 10 mL de água destilada.

As amostras foram levadas ao destilador de N, abriu-se a válvula do copo dosador, depois foi adicionado hidróxido de sódio 15N, acrescentando até que a amostra fique escura, atingindo a coloração, fecha-se o copo dosador. Coloca-se o béquer contendo 10 mL de indicador no suporte da coleta, em seguida liga o destilador deixando destilar até que atinja o volume de 50 mL no béquer.

Após a destilação, foram adicionadas 3 gotas de indicador titulado com HCL 0,05 N, sendo adicionadas aos poucos até que o ponto da virada seja atingido, ou seja, ocorra a mudança na coloração. Em seguida, realizada a avaliação do NPA presente na parte aérea, bem como do NBI, que avalia o balanço entre a disponibilidade e a utilização do nitrogênio na planta.

2.8. Determinação de fósforo da parte aérea da planta

As amostras do vegetal foram secas a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ por 48 h, moídas em torno de 500 mg e acondicionadas em cadinhos na mufla para incineração a $500 \text{ }^\circ\text{C}$ por 4 horas, até atingir a combustão completa. Após o resfriamento, foram adicionados 10 mL de HCl 1 mol L^{-1} . Em seguida, os cadinhos foram colocados em uma chapa de aquecimento a $70 \text{ }^\circ\text{C}$ por 10 min, para solubilização total dos elementos. Após o resfriamento, filtrou e retirou 2,5 mL do sobrenadante com uma pipeta, em seguida foi adicionado 5 mL de água deionizada (Martins; Reissmann, 2007).

O P foi estimado por colorimetria com molibdato de amônio + ácido ascórbico em espectrofotômetro, utilizando um filtro vermelho e um comprimento de onda de 660 nm (Silva, 2009).

2.9. Teor de clorofila a e clorofila b e carotenoides

Os conteúdos de clorofila a, clorofila b e de carotenoides foram mensurados em conformidade com Lichtenthaler (1987). Foram macerados 150 mg de folhas frescas de três repetições de cada tratamento, em triplicata. As amostras foram acondicionadas em microtubos

Eppendorf 2 mL, aos quais foram acrescentados 1,5 mL de acetona PA envolto em papel alumínio para serem mantidos em ambiente de escuro, onde permaneceram sob agitação por 24 h, sob temperatura de 6 °C. Em seguida, realizado a leitura de acordo com o protocolo adaptado para ELISA (Koleva *et al.*, 2002) 645 nm para clorofila a, 663 nm clorofila b e 470 carotenoides e calculadas as concentrações dos pigmentos conforme as fórmulas de Lichtenthaler e Welbum (1983) onde:

$$\text{Clor a} = [(12,7.A663)-(2,69.A645)].V/(1000.M)$$

$$\text{Clor b} = [(22,9.A645)-(4,68.A663)].V/(1000.M)$$

$$\text{Clortotal} = [(20,2.A663)-(2,69.A645)].V/(1000.M)$$

$$\text{Carot} = [(1000.A470)-(1,82.CHL a-85,02.CHL b)]. V/(1000.M)$$

Onde Clor e Carot significam clorofila e carotenoides, A663, A645 e A470 representam os valores das absorbâncias, V é o volume de acetona em mL utilizado na extração de M é a massa fresca das folhas utilizadas para a extração.

2.10. Flavonoides e antocianinas

Os flavonoides e antocianinas foram extraídos segundo a metodologia descrita por Francis (1982), na qual foi utilizada como solvente extrator uma solução etanol-HCl. Onde foi pesado 1 g do material congelado e foi realizada a anotação. Em seguida, foram adicionados aproximadamente 30 mL da solução com uso de proveta de etanol-HCl (1,5 M) e homogeneizado em um agitador mecânico vórtex e transferido para um balão volumétrico de 50 mL (sem filtrar) envolto em papel de alumínio, completando-se para o volume final com a solução etanol-HCl (1,5 M) 20 mL.

Ficou descansando por uma noite na geladeira, filtrando o material para um béquer, sempre envolto com papel alumínio e realizando a leitura em um comprimento de onda de acordo com o protocolo adaptado para ELISA (Koleva *et al.*, 2002) 535 nm para antocianinas e flavonoides. Já o branco foi composto da solução de etanol-HCl (1,5 M). Todo procedimento foi realizado com redução da luminosidade.

2.11. Determinação de fenólicos, Ferric Reducing Antioxidant Power e método Radical de nitrogênio

Foram pesadas 0,5 g da amostra fresca em um béquer e adicionado 20 mL de metanol 50%, e colocado em tubo falcon 50 mL, ficou em repouso, protegido da luz utilizando papel

alumínio, durante 1 h. em temperatura ambiente. Em seguida, foi realizada a centrifugação em 15.000 rpm por 15 min sob temperatura de 10 °C.

O sobrenadante foi recolhido e colocado em um balão volumétrico de 50 mL protegido de luz e temperatura ambiente. Depois de adicionado 20 mL de acetona 70% no resíduo que ficou no tubo que foi centrifugado, ficando de repouso por 1 h, protegido novamente da luz e temperatura ambiente. Novamente foi realizada a centrifugação de 15.000 rpm por 15 min e transferido o sobrenadante para o mesmo balão volumétrico do primeiro sobrenadante e completado com água destilada.

O conteúdo de fenólico total foi determinado usando Folin-Ciocalteu, como descrito por Waterhouse (2002) em protocolo adaptado para ELISA em 750 nm. Para o cálculo do teor fenólico foi necessário construir uma curva de calibração com os valores de absorbância de acordo com as concentrações de ácido gálico e calculado a equação da reta e o coeficiente de correlação linear (r), onde valores acima de 0,99 demonstraram níveis adequados de precisão, no qual, y = valor de absorbância; x = teor de fenólicos totais, onde os resultados obtidos foram expressos em $\mu\text{g mL}^{-1}$.

O potencial antioxidante também foi avaliado por meio do método de redução do ferro (FRAP), conforme descrito por Rufino et al. (2006). Também foi realizado o mesmo processo das amostras conforme descrito anteriormente.

As amostras foram determinadas pela mistura de 270 μL de FRAP e 10 μL de amostras e 20 μL de água e homogeneizadas e mantidas em banho-maria a 37 °C por 30 min e realizada a leitura a 595 nm.

A partir das absorbâncias obtidas das diferentes diluições dos extratos, plotada a absorbância no eixo Y e a diluição (mg L^{-1}) no eixo X. Em seguida, determinada a equação da reta ($y = mx + b$), onde y é a absorbância; x a concentração (mg L^{-1}); m é o coeficiente angular e b o intercepto no eixo Y.

A atividade antioxidante dos extratos das folhas foi avaliada com base no efeito sequestrador de radicais livres do DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), utilizando protocolo adaptado para ELISA em 515 nm (Koleva et al., 2002), sendo repetida no intervalo de 30 min. cada vez que estabiliza.

Os resultados foram expressos em percentual de sequestro de radical livre (%SRL), conforme equação: $\%SRL = (AC-AM) / AC \times 100$, onde AC é a absorbância do controle e AM é a absorbância da amostra.

2.12. Sistema β -Caroteno/Ácido linoléico

O sistema Beta-Caroteno/Ácido Linoleico, foi seguido pelo protocolo de Mattos *et al.* (2009), adaptados para microplacas em leitura no ELISA. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Foi pesado 100 mg de amostra de massa fresca, em seguida adicionado 0,5 mL de etanol a 70% e agitado por 1 h. em um shaker, 20 min. em banho de ultrassom e centrifugado por 10 min. a 10000 rpm. Ao final foi recolhido o sobrenadante e transferido para um tubo limpo. Ocorreu a repetição do procedimento de extração para o resíduo que ficou no fundo do tubo Eppendorf, em seguida, foi adicionado 0,5 mL de etanol a 70%. A amostra foi agitada por 1 h em um shaker por 20 min em banho de ultrassom e foi centrifugada por 10 min. 10000 rpm, recolhido o sobrenadante e transferido para o tubo com a amostra.

A atividade antioxidante foi determinada pela mistura de 280 μ L de emulsão contendo β -caroteno/ácido linoléico e 20 μ L de amostras; além disso, alíquotas de 280 μ L de emulsão do branco foram transferidas para placas de ELISA contendo 20 μ L de extratos. Plotadas em microplacas de fundo chato, sendo mantidas a 50 °C, durante 120 min a 470 nm, sendo realizada a leitura antes e após 120 min.

Os resultados foram expressos em porcentagem da atividade antioxidante conforme equação: %AA = $[1 - (\text{Abscinicial} - \text{Abscfinal}) / (\text{Absaminicial} - \text{Absamfinal})] \times 100$ em que, %AA = porcentagem da atividade antioxidante; Abscinicial = absorvância inicial do controle; Abscfinal = absorvância final do controle; Absaminicial = absorvância inicial da amostra e Absamfinal = absorvância final da amostra.

2.13. Determinação do açúcar total

Foram pesados 200 mg da massa vegetal e adicionados 2 mL de água destilada e homogeneizada no vórtex, em seguida, centrifugado por 5 min a 7000 rpm, recolhido o sobrenadante para um novo tubo. Foi retirado 1,0 mL do sobrenadante e realizado o teste de DNS.

Em cada poço de microplaca foram adicionados 25 μ L de amostra e 25 μ L do reativo DNS, levado ao banho fervente por 5 min., em seguida resfriado em gelo e adicionado 330 μ L de solução de tartarato duplo de sódio e potássio, por fim as microplacas foram levadas para leitura no ELISA e lidas a 490 nm de acordo com protocolo de Maldonade *et al.* (2013) e Santo *et al.* (2017).

2.14. Determinação do açúcar redutor

As amostras foram homogeneizadas em N líquido, adicionadas 4 mL de etanol 80% em 250-300 mg de massa vegetal e agitadas no vórtex, mantidas a 75 °C por 10 min e centrifugadas a 10.000 rpm por 10 min. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo, lavado o precipitado com 4 mL de etanol 80% e coleta do sobrenadante de acordo com o protocolo de Maldonade *et al.* (2013) e Santo *et al.* (2017).

Depois de pipetadas as amostras em microplaca, foram seladas com filme plástico pvc e levadas a banho fervente por 5 min., em seguida resfriadas em gelo e retirado o filme plástico que selava e adicionado 330 µL de água deionizada autoclavada.

A leitura foi realizada em ELISA a 490 nm a temperatura de 25 °C sem cinética apenas uma vez e foi realizado o cálculo de sensibilidade, linearidade, limite de detecção e limite de quantificação.

2.15. Análise estatística

Todos os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA). As médias foram comparadas pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) utilizando SPSS for Windows versão 22.0 (SPSS Inc. Chicago, IL, EUA) e hierárquico agrupamento e análise de componentes principais (PCA) utilizando o software Statistica versão 13.0 Statsoft (2017).

O PCA é uma técnica estatística multivariada usada para reduzir a dimensão de um conjunto de dados. Ela é baseada na correlação da matriz de covariância, onde a matriz de dados A consiste de n objetos (espectros) representados por p variáveis (absorbâncias obtidas em diferentes comprimentos de onda). O PCA decompõe a matriz A em três matrizes, onde T é a matriz score, P é a matriz de loading e E é a matriz residual ($A = T_{n \times q} P_{q \times p} + E$). O número de fatores que descreve a maior parte da variância dos dados é representado por q , sendo P^t a matriz transposta de P . Cada fator corresponde a uma linha ou coluna das matrizes T ou P , respectivamente (Beebe *et al.*, 1998).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 apresenta os resultados da análise de variância (ANOVA) para diversos parâmetros, comparando a inoculação por FMAs e *A. brasilense* e a interação entre FMA e *A. brasilense*. A inoculação com FMAs e a interação com *A. brasilense* influenciaram significativamente a maioria dos parâmetros analisados. Esses resultados enfatizam a importância de considerar as interações entre diferentes fatores para compreender seu impacto nos parâmetros microbiológicos e fisiológicos das plantas.

Tabela 1. Análise de variância – ANOVA bidirecional de vários parâmetros do solo (substrato) e da planta *Levisticum officinale* inoculado ou não com FMA *Rhizophagus clarus*, *Claroideoglomus etunicatum* e ou não *Azospirillum brasilense*.

Parâmetro	FMA	AZ	FMA x AZ
Esporos	0,080	0,047*	0,041
Colonização	<0,001	0,005	0,009
Colonização/Arbúsculo	<0,001	0,410	0,038
Respiração basal do solo (RBS)	0,769	0,007	0,157
Carbono da biomassa microbiana do solo (CBM)	<0,001	0,108	0,048
Quociente metabólico (qCO_2)	0,032	0,065	0,632
Massa fresca da raiz (MFR)	0,002	<0,001	0,157
Massa seca da raiz (MSR)	0,008	<0,001	0,046
Massa fresca da parte aérea (MFPA)	0,164	<0,001	0,117
Massa seca da parte aérea (MSPA)	0,114	<0,001	0,002
Massa fresca total (MFT)	0,025	<0,001	0,091
Massa seca total (MST)	0,014	<0,001	0,010
Massa seca da raiz/ massa seca da parte aérea (MSR/MSPA)	0,019	0,657	0,784
Nitrogênio da parte aérea (NPA)	0,218	0,745	0,837
Fósforo da parte aérea (PPA)	<0,001	<0,001	0,024
Altura	0,087	0,154	0,044
Índice de balanço de nitrogênio (NBI)	<0,001	<0,001	0,406
Índice de clorofila (IC)	0,001	0,147	0,176
Clorofila A	<0,001	0,406	<0,001
Clorofila B	<0,001	0,863	0,046
Clorofila Total	<0,001	0,717	0,005
Flavonoides	<0,001	<0,001	<0,001
Compostos fenólicos Totais (CFT)	0,005	0,046	<0,001
Antocianinas	<0,001	<0,001	<0,001
Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)	0,001	0,730	<0,001
Radical de nitrogênio (DPPH)	0,001	0,032	<0,001
Beta Caroteno	<0,001	<0,001	<0,001
Carotenoide Total	<0,001	0,004	<0,001
Açúcar Total (AcTot)	<0,001	0,038	<0,001
Açúcar Redutor (AcRed)	<0,001	<0,001	<0,001
Açúcar não redutor (AcNred)	<0,001	0,973	<0,001

*Valores de p em negrito são significativos ($p \leq 0,05$).

A densidade de esporos, a colonização radicular total e a formação de arbusculos em plantas de *L. officinale* variaram significativamente entre os tratamentos (Tabela 2). O tratamento T6 (42,05), destacou-se com a maior densidade de esporos FMAs, seguido por T7 (31,43) e T2 (20,14), evidenciando efeito positivo da coinoculação na multiplicação dos propágulos fúngicos. Por outro lado, os tratamentos T4 (8,28) e T5 (7,88) apresentaram as menores densidades de esporos entre os inóculos, embora ainda significativamente superior ao tratamento controle (0,51).

Quanto à colonização por arbusculos, foi maior nos tratamentos T2 (10,20), T3 e T5 (8,20). A colonização total foi significativamente superior no tratamento T7 (66,40), diferindo significativamente de todos os demais (Tabela 2). Esses resultados sugerem que a combinação específica de microrganismos influencia diretamente a capacidade de esporulação dos FMAs, refletindo na eficiência da colonização radicular e na formação de estruturas simbióticas funcionais como arbusculos (Nunes, 2023), ou pode devido à comunicação entre os organismos (Costa *et al.*, 2013) tendo um valor expressivo de 66,40 (T7) valor significativamente superior ao observado no tratamento controle T1 (1,00),

Esses achados reforçam o papel da coinoculação da associação micorrízica no desenvolvimento da planta, como destaca Ventura *et al.* (2021), que apontam os FMAs como agentes-chave na ampliação e na ativação de vias bioquímicas relacionadas à defesa e ao crescimento. Apesar dos avanços, a dinâmica entre FMAs e bactérias promotoras de crescimento ainda é pouco explorada, exigindo mais estudos para compreender os mecanismos envolvidos e suas aplicações.

Quando comparada à quantidade de arbúsculo, o maior valor foi registrado no tratamento T2 (10,20), onde o *Rhizophagus clarus* foi inoculado isoladamente. Por outro lado, a maior densidade de esporos ocorreu em T6 (42,05) e na colonização total foi mais elevada em T7 (66,40), ambos envolvendo coinoculações com *A. brasilense*. Esses resultados sugerem que a presença de bactéria pode ter favorecido a esporulação e a colonização micorrízica, possivelmente por meio da produção de fitohormônios ou pela modulação da rizosfera.

No entanto, essa interação parece redirecionar o desenvolvimento micorrízico, especialmente no que diz respeito à formação de arbúsculo, sendo que tal efeito não deve ser interpretado como negativo, mas sim como uma manifestação de sinergia funcional não linear entre os microrganismos.

Segundo Laurindo e Cruz (2024), em estudo com alface a inoculação isolada com *R. clarus* resultou em aumento significativo da altura das plantas, enquanto *Azospirillum* promoveu maior número de folhas, já a coinoculação, por sua vez, elevou a biomassa foliar,

mas não necessariamente a eficiência micorrízica em termos de formação de arbúsculos, reforçando a hipótese de que os efeitos combinados podem ser complementares, porém não aditivos.

No estudo de Zubek *et al.* (2013), no qual avaliaram a colonização de FMAs na planta *L. officinale*, encontraram cerca de 45% de colonização total de FMAs, sendo semelhante a colonização encontrada no presente estudo, variando de 43,8% a 66,4%. Demonstrando que o manejo agrícola pode influenciar significativamente a interação entre microrganismos, com *A. brasilense* (Junior, 2018).

Já os FMAs, por sua vez, desempenham papel essencial na absorção de nutrientes pelas raízes, na resistência da planta a estresses biótico e abiótico e na promoção da comunicação entre os microrganismos, contribuindo diretamente para sobrevivência do vegetal e a sustentabilidade ecológica dos sistemas agrícolas (Costa *et al.*, 2013; Berude *et al.*, 2015), além de favorecer o crescimento da biomassa, melhora a solubilização e a disponibilidade de nutrientes, potencializando o rendimento das cultura (Pagnussat *et al.*, 2023).

Tabela 2. Colonização radicular e arbúsculo (%) por fungos micorrízicos (FMA) e densidade de esporos (número de esporos g⁻¹ de substrato seco) de plantas de *Levisticum officinale* inoculadas ou não com FMA e *Azospirillum brasilense*.

Trat	Esporos	Arbúsculo	Colonização total
T1	0,51±0,31c	0,40±0,24d	1,00±0,63c
T2	20,14±8,21abc	10,20±1,71a	49,60±5,22b
T3	18,44±3,44abc	8,20±1,31ab	43,80±1,65b
T4	8,28±1,98bc	3,60±1,20cd	40,80±5,95b
T5	7,88±0,74bc	8,20±1,31ab	49,20±3,73b
T6	42,05±15,43a	5,00±1,09bc	49,00±5,10b
T7	31,43±9,48ab	6,40±0,67bc	66,40±3,51a
<i>p</i> -valor	0,009	<0,001	<0,001

Média ± erro padrão (n=5). Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste Duncan ($p \leq 0,05$). T1: controle não inoculado; T2: *R. clarus*; T3: *C. etunicatum*; T4: *R. clarus* + *C. etunicatum*; T5: *R. clarus* + *A. brasilense*; T6: *C. etunicatum* + *A. brasilense*; T7: *R. clarus* + *C. etunicatum* + *A. brasilense*.

Estudos de Singh *et al.* (2020) relataram que plantas associadas à diversidade microbiana refletem o resultado de eventos ecológicos e evolutivos que moldaram suas interações ao longo dos anos, fundamentais para a adaptação e sobrevivência em diversos ambientes. Alipour *et al.* (2024) mencionam que FMAs e *A. brasilense* em associação inibem os efeitos negativos do estresse de seca e aumentam todas as características morfológicas e bioquímicas do funcho (*Foeniculum vulgare*) sob estresse hídrico em dois habitats diferentes.

Diante dos aspectos relevantes da colonização radicular, vale destacar o papel das minhocas e nematoides, que contribuem para a distribuição espacial da população de FMAs. Por outro lado, os colêmbolos se alimentam de hifas extraradiciais, reduzindo sua eficácia e diminuindo o comprimento da raiz colonizada (Gabriela *et al.*, 2023; Shirokov *et al.*, 2017).

Essa interação entre os FMAs e *A. brasilense* demonstra que os bioestimulantes vem ganhando destaque na agricultura sustentável devido à sua capacidade de melhorar a saúde do solo, a resistência das plantas e a produtividade de forma mais ecológica (Sun *et al.*, 2025), além de promover resiliência em culturas a condições adversas, como estresse hídrico ou salinidade do solo, bem como uma alternativa de aquisição de bioestimuladores naturais de alto valor biológico (Jürkenbeck; Spiller, 2020).

A respiração basal do solo (RBS), o carbono da biomassa microbiana (CBM) e o quociente metabólico (qCO_2) apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 3).

Onde a RBS foi significativamente maior nos tratamentos T6 (1,87) e T7 (1,84). Corroborando estudos que relatam a capacidade do *A. brasilense* de fixar N₂ e sua interação com o FMA, favorecendo o processo biológico (Santos *et al.*, 2021). O tratamento controle (T1=1,29) apresentou valor significativamente inferior, similar ao observado em T4 (1,16). Os demais tratamentos não diferiram estatisticamente entre si. Mostrando evolução apenas entre os tratamentos com FMAs (Tabela 3).

Tabela 3. Respiração basal do solo (RBS, $\mu\text{g C-CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) carbono da biomassa microbiana (CBM, $\mu\text{g CO}_2 \text{ g}^{-1}$), e quociente metabólico (qCO_2 , $\mu\text{g CO}_2 \mu\text{g}^{-1} \text{ C-microbiana h}^{-1}$) da planta *Levisticum officinale* inoculada ou não com FMA e *Azospirillum brasilense*.

Trat	RBS	CBM	qCO_2
T1	1,29±0,12b	336,62±17,92c	3,96±0,59a
T2	1,50±0,07ab	535,15±17,06a	2,81±0,13ab
T3	1,43±0,31ab	446,73±45,08b	3,14±0,56ab
T4	1,16±0,16b	486,85±22,62ab	2,41±0,33b
T5	1,54±0,07ab	499,42±26,61ab	3,12±0,17ab
T6	1,87±0,10a	526,35±18,94a	3,55±0,14ab
T7	1,84±0,12a	545,82±15,89a	3,36±0,15ab
<i>p</i> -valor	0,036	<0,001	0,05

Média ± erro padrão (n=5). Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste Duncan ($p \leq 0,05$). T1: controle não inoculado; T2: *R. clarus*; T3: *C. etunicatum*; T4: *R. clarus* + *C. etunicatum*; T5: *R. clarus* + *A. brasilense*; T6: *C. etunicatum* + *A. brasilense*; T7: *R. clarus* + *C. etunicatum* + *A. brasilense*.

O CBM nos tratamentos T7 (545,82), T2 (535,15) e T6 (526,35) e apresentou os maiores valores, com médias significativamente superior ao controle. De acordo com Pinheiro *et al.*

(2020), a fertilidade do solo promove o aumento da produtividade e contribui para a melhoria da qualidade nutricional das culturas, podendo ter ocorrido uma interação positiva entre os inóculos que favoreceu a simbiose entre plantas e microrganismos.

O quociente metabólico (qCO_2), indicador da eficiência do uso do carbono pela microbiota, obteve o maior valor no controle ($T1=3,96$), que foi significativamente superior ao tratamento T4 (2,41). Os demais tratamentos apresentaram valores intermediários, sem diferença estatística em relação ao controle. A redução do qCO_2 em relação ao controle sugere maior eficiência no uso do C microbiano nos tratamentos inoculados.

Segundo Ribeiro (2024), a queda no qCO_2 do inoculado pode indicar perda de CO_2 , tendo como destaque processos metabólicos de ciclagem de nutrientes, bem como menor sequestro de C no solo. O mesmo ocorreu quando Souza *et al.* (2022) estudaram *R. clarus* e *C. etunicatum* associados com rizobactérias *A. brasilense* em capim limão, onde o qCO_2 foi maior no tratamento controle, diminuindo nos demais tratamentos onde havia a inoculação.

De maneira geral, os resultados apresentados na Tabela 3 indicam que a inoculação com FMAs, tanto de forma isolada quanto em associação com *A. brasilense*, promoveu um aumento na atividade microbiana do solo, evidenciado principalmente pelo CBM. Esse incremento sugere uma melhoria na produtividade e na fertilidade do solo, uma vez que microrganismos como FMAs e bactérias são essenciais para a decomposição da matéria orgânica e, conseqüentemente, para a liberação de CO_2 em ambientes com condições abióticas favoráveis (Silva; Azevedo; De-Polli, 2007; Branco; Almeida, 2023). Além disso, a presença de microrganismos fixadores de N, como *Azospirillum*, pode contribuir positivamente para o aumento da biomassa microbiana e da ciclagem de nutrientes no solo (Branco; Almeida, 2023).

A inoculação com FMAs e *A. brasilense* promoveu aumentos significativos na produção de biomassa fresca das plantas de *L. officinale* (Tabela 4). Onde a massa fresca da raiz (MFR) foi significativamente maior nos tratamentos T7 (28,78) e T6 (28,65), ambos diferindo estatisticamente do controle ($T1=10,63$) dos demais tratamentos. Esses resultados indicam que a coinoculação com microrganismos benéficos promoveu maior desenvolvimento radicular, o que pode estar relacionado à ação sinérgica entre os FMAs e as bactérias promotoras de crescimento.

Segundo Santos *et al.* (2021), cepas de *A. brasilense* como Ab-V5 e Ab-V6 têm demonstrado impactos expressivos no crescimento de raízes, acúmulo de biomassa e produtividade de diversas culturas, corroborando os dados observados na tabela 4 e reforçando o potencial da associação micorrízica.

Por outro lado, Shen *et al.* (2021), observaram, em experimentos com mudas de milho, que o crescimento radicular também pode ocorrer em tratamentos sem inoculação, dependendo das condições ambientais e do manejo nutricional, isso sugere que embora a inoculação com *A. brasilense* e FMAs seja eficaz, sua resposta pode variar conforme o sistema de cultivo, o tipo de solo e a espécie de vegetal envolvida.

Tabela 4. Massa fresca da raiz (MFR - g planta⁻¹), massa fresca da parte aérea (MFPA - g planta⁻¹), massa fresca total (MFT - g planta⁻¹) da planta *Levisticum officinale* inoculada ou não com FMA e *Azospirillum brasilense*.

Trat	MFR	MFPA	MFT
T1	10,63±1,99c	8,64±2,22d	19,27±4,16d
T2	14,99±1,92bc	14,79±1,33bc	29,78±2,79cd
T3	20,93±1,31b	12,49±0,58cd	33,42±0,83c
T4	15,41±2,23bc	12,15±3,46cd	27,56±5,32cd
T5	20,22±2,03b	18,12±1,19abc	38,34±3,07bc
T6	28,65±2,77a	19,01±1,74ab	47,66±4,15ab
T7	28,78±2,12a	23,63±1,38a	52,42±3,26a
<i>p</i> -valor	<0,001	<0,001	<0,001

Média ± erro padrão (n=5). Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste Duncan ($p \leq 0,05$). T1: controle não inoculado; T2: *R. clarus*; T3: *C. etunicatum*; T4: *R. clarus* + *C. etunicatum*; T5: *R. clarus* + *A. brasilense*; T6: *C. etunicatum* + *A. brasilense*; T7: *R. clarus* + *C. Etunicatum* + *A. brasilense*.

Para a massa fresca da parte aérea (MFPA), houve um aumento significativo no tratamento T7 que atingiu 23,63, em contraste com o tratamento controle (T1), que apresentou valor inferior de 8,64. Essa mesma tendência foi verificada na massa fresca total em que o T1 registrou 19,27, enquanto T7 obteve o maior valor 52,42 evidenciando efeito positivo simbiótico no crescimento do *L. officinale*, possivelmente devido a melhor disponibilidade de nutrientes, estímulo hormonal, favorecendo maior acúmulo de biomassa (Tabela 4).

De forma geral, os resultados demonstram que a inoculação, especialmente a tripla (T7), promoveu ganhos significativos no acúmulo de biomassa fresca, refletindo uma resposta positiva das plantas à associação com FMA e *A. brasilense*. Conforme demonstrado por Xu *et al.* (2018), a inoculação com *A. brasilense* promoveu aumento no peso fresco dos brotos de agrião submetido ao estresse por cádmio, evidenciando o potencial dessa bactéria na promoção do crescimento vegetal mesmo em condições adversas, corroborando com os resultados observados no tratamento T7, no qual, a associação simbiótica entre os FMAs e a bactéria favoreceu a absorção de nutrientes e uma colonização radicular mais eficiente, resultando em um maior desenvolvimento vegetativo de *L. officinale*.

Embora as folhas de *L. officinale* sejam amplamente utilizadas como tempero na culinária, as raízes dessa planta ainda recebem pouca atenção, sendo frequentemente tratadas como subproduto e pouco exploradas em estudos científicos (Szparaga, 2023). No entanto, os resultados obtidos neste trabalho demonstram que a inoculação com FMAs e *A. brasilense* influenciou significativamente a produção de massa seca das plantas (Tabela 5), evidenciando os efeitos positivos da simbiose microbiana sobre o crescimento vegetativo.

Tabela 5. Massa seca da raiz (MSR - g planta⁻¹), massa seca da parte aérea (MSPA - g planta⁻¹), massa seca total (MST - g planta⁻¹) e relação da MSR/MSPA da planta *Levisticum officinale* inoculada ou não com FMA e *Azospirillum brasilense*.

Trat	MSR	MSPA	MST	MSR/MSPA
T1	2,41±0,61de	0,73±0,13e	3,14±0,72c	3,10±0,83ab
T2	2,43±0,57de	1,29±0,10cd	3,73±0,63bc	1,85±0,35b
T3	4,23±0,39bc	1,18±0,02cde	5,42±0,39b	3,58±0,34a
T4	1,81±0,64e	0,91±0,30de	2,73±0,87c	2,15±0,47ab
T5	3,77±0,45cd	1,64±0,14bc	5,41±0,43b	2,38±0,34ab
T6	6,09±0,62a	1,86±0,19b	7,96±0,54a	3,45±0,53a
T7	5,80±0,53ab	2,54±0,15a	8,34±0,65a	2,28±0,15ab
<i>p</i> -valor	<0,001	<0,001	<0,001	0,05

Média ± erro padrão (n=5). Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste Duncan ($p \leq 0,05$). T1: controle não inoculado; T2: *R. clarus*; T3: *C. etunicatum*; T4: *R. clarus* + *C. etunicatum*; T5: *R. clarus* + *A. brasilense*; T6: *C. etunicatum* + *A. brasilense*; T7: *R. clarus* + *C. etunicatum* + *A. brasilense*.

O tratamento T6 (6,09), seguido de T7 (5,80), aumentou significativamente a MSR, corroborando com Barbosa et al. (2021), que relatam que o processo de inoculação com bactérias do gênero *Azospirillum* promoveu aumento de massa seca da raiz, possivelmente relacionado à maior eficiência na absorção de nutrientes e menor demanda energética para o desenvolvimento radicular, conforme sugerido por Oliveira (2021).

De maneira semelhante, Puri et al. (2020), observaram aumentos significativos no crescimento radicular de plantas de canola e tomate inoculadas com *A. brasilense*, tanto no comprimento das raízes quanto na massa seca, resultados atribuídos à atividade da enzima ACC desaminase (1-aminociclopropano-1-carboxilato desaminase).

Para a MSPA, houve aumento significativo no tratamento T7, atingindo 2,54, o maior valor entre os tratamentos. Já nos tratamentos T6 (1,86) e T5 (1,64) também demonstraram incrementos expressivos em relação ao controle (0,73), que obteve menor desempenho. Esses resultados corroboram os achados de Ali et al. (2023), que observaram efeitos positivos no peso seco da parte aérea em coentro quando submetida a tratamentos combinados com FMAs e bactérias, independentemente da estação de cultivo.

A MST apresentou aumentos significativos nos tratamentos T7 (8,34), T6 (7,96), T3 (5,42), T5 (5,41), todos estatisticamente superiores ao controle. Esses resultados reforçam a eficiência da inoculação na promoção do crescimento vegetativo, sugerindo um efeito sinérgico entre os microrganismos utilizados, visto que os FMAs e as bactérias promotoras de crescimento atuam de forma interdependente na rizosfera, contribuindo para a melhoria da absorção de nutrientes, estímulo hormonal e maior resistência a estresses, o que reflete diretamente no aumento da biomassa vegetal (Rezende *et al.*, 2021).

A relação MSR/MSPA apresentou variações significativas entre os tratamentos. Os maiores valores foram observados em T3 (3,58) e T6 (3,45), indicando uma maior alocação de biomassa para o sistema radicular. Esses resultados podem estar associados à presença de microrganismos micorrízicos e às condições favoráveis à absorção de nutrientes, que estimulam o desenvolvimento radicular. Segundo Grover *et al.*, (2021), características morfológicas das raízes desempenham papel fundamental na transição para sistemas agrícolas mais sustentáveis.

De acordo com Souza *et al.* (2022), a coinoculação de *R. clarus* e *C. etunicatum* com a *A. brasilense* em capim limão (*Cymbopogon citratus*) resultou em aumentos significativos na massa seca da raiz (MSR) e da parte aérea (MSPA), sendo mais efetiva no incremento de massa seca total (MST), corroborando os resultados obtidos no presente estudo (Tabela 5).

Por outro lado, o menor valor foi observado em T2 (1,85), sugerindo menor investimento na estrutura subterrânea. Esse desequilíbrio pode indicar limitação no desenvolvimento da planta, mesmo com crescimento radicular expressivo.

De modo geral, a inoculação, especialmente envolvendo *C. etunicatum* e *A. brasilense*, resultou nos maiores ganhos em massa seca total, com destaque para o tratamento T7 (8,34). Consolidando estudo de Cui *et al.* (2023), sob estresses de cádmio em couve chinesa onde constatou que a ação da *A. brasilense* favorece o aumento da biomassa total, bem como na biomassa das raízes e da parte aérea.

Segundo Plawgo *et al.* (2024), a aplicação de microrganismos benéficos pode favorecer o acúmulo de biomassa e melhorar a morfologia radicular e da parte aérea, contribuindo para o desempenho nutricional e produtivo das plantas. Esses efeitos corroboram os resultados observados no presente estudo, nos quais os tratamentos com FMA e *A. brasilense* promoveram ganhos significativos no crescimento e nos teores de metabólitos bioativos em *L. officinale*.

O processo de inoculação com FMAs e *A. brasilense* influenciou significativamente os teores de fósforo na parte aérea (PPA) e no índice de balanço de nitrogênio (NBI), embora os teores de nitrogênio da parte aérea (NPA) não tenham apresentado diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos (Tabela 6).

O NBI foi significativamente maior no tratamento T2 (205,56); por outro lado, o tratamento T6 (93,34) diminuiu significativamente, indicando possível desequilíbrio nutricional ou competição entre simbioses (Tabela 6). De acordo com Grover *et al.* (2021), esses microrganismos podem atuar de forma direta ou indireta, promovendo competição por nutrientes, solubilização de minerais, produção de fitormônios, além de aumentar a resistência da planta contra fitopatógenos, o que contrasta com o alto acúmulo de fósforo observado nesse mesmo tratamento.

Os maiores valores de PPA foram encontrados nos tratamentos T5 e T7 de 3,28 para ambos, seguidos por T6 (3,14), todos significativamente superior ao controle (1,73) (Tabela 6). Esses resultados demonstram que a inoculação com FMA e *A. brasilense* promoveu maior absorção de P pelas plantas de *L. officinale*, corroborando com Costa *et al.*, (2023), onde relataram que as bactérias promotoras de crescimento, possuem a capacidade de fixar N₂ atmosférico, solubilizar P, modificar a participação de fotoassimilados, promover simbiose entre raízes e micorrizas, além de produzir fito hormônios, enzimas, substâncias sinalizadoras e sideróforos.

Tabela 6. Nitrogênio da parte aérea (NPA – g kg⁻¹), índice de balanço de nitrogênio (NBI) e fósforo da parte aérea (PPA - g kg⁻¹) da planta *Levisticum officinale* inoculada ou não com FMA e *Azospirillum brasilense*.

Trat	NPA	NBI	PPA
T1	20,28±1,35a	106,02±5,46cd	1,73±0,09d
T2	22,40±0,85a	205,56±16,34a	2,45±0,10c
T3	22,48±0,82a	127,48±17,97bcd	2,78±0,10b
T4	22,88±0,73a	151,92±13,12b	2,84±0,07b
T5	21,42±1,54a	143,30±14,22bc	3,28±0,05a
T6	22,40±0,85a	93,34±3,82d	3,14±0,10a
T7	23,10±0,85a	119,18±5,77bcd	3,28±0,03a
<i>p</i> -valor	0,529	<0,001	<0,001

Média ± erro padrão (n=5). Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste Duncan ($p \leq 0,05$). T1: controle não inoculado; T2: *R. clarus*; T3: *C. etunicatum*; T4: *R. clarus* + *C. etunicatum*; T5: *R. clarus* + *A. brasilense*; T6: *C. etunicatum* + *A. brasilense*; T7: *R. clarus* + *C. etunicatum* + *A. brasilense*.

A relação entre o NBI e o PPA também sugere que, embora os teores de NPA tenham permanecido estáveis, a eficiência no uso do N pode ter sido modulada pela presença de FMA e *A. brasilense*, resultando em um melhor aproveitamento dos recursos nutricionais e consequente aumento da biomassa. De acordo com Yang *et al.* (2021), esse fenômeno ocorre devido à maior absorção e transporte de N, facilitados pela intensa interceptação do micélio

micorrízico na micorrizosfera, além disso, os FMAs liberam glomalina no solo, uma substância que também contribui significativamente para a absorção de nutrientes, incluindo o N.

Para Gabriela *et al.* (2023), a combinação da fertilização com N e inoculação com *A. brasilense* pode garantir maior absorção de nutrientes e aumentar o rendimento das culturas em análise, bem como a cultura do milho em casa de vegetação em condições de campo, onde obteve crescimento significativo quando comparado com o controle.

Estudo com inoculação da *A. brasilense* demonstra o aumento de nitrogênio e fósforo foliar do milho, com maiores efeitos quando dois microrganismos são combinados (Gavilanes *et al.*, 2020), corroborando os resultados nos tratamentos T5 e T7 (3,28) e T6 (3,14) para PPA.

A altura das plantas e os teores de pigmentos fotossintéticos em *L. officinale* diante da inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e *A. brasilense* influenciaram significativamente (Tabela 7). Sendo observada essa altura no tratamento T7 de 33,98, diferindo significativamente do controle (T1=23,60), que apresentou a menor média. Os tratamentos T2, T3, T5 e T6 também promoveram incremento significativo no crescimento vertical em relação ao controle.

Tabela 7. Altura da planta (cm), índice do teor de clorofila (IC), clorofila A, B e clorofila total da planta *Levisticum officinale* inoculada ou não com FMA e *Azospirillum brasilense*.

Trat	Altura	IC	Clorofila A	Clorofila B	Clorofila Total
T1	23,60±4,54c	48,88±7,78b	40,21±0,38c	23,46±0,13d	63,68±0,51d
T2	32,30±0,88a	68,14±1,55a	46,48±0,13ab	34,22±0,4ab	80,71±0,37ab
T3	31,10±0,67ab	70,72±2,80a	30,88±2,42e	20,44±1,43de	51,32±3,76e
T4	25,00±2,55bc	67,38±2,68a	48,86±0,46a	31,24±1,68bc	80,11±1,62ab
T5	31,80±0,87a	73,06±3,05a	48,89±0,17a	37,06±0,95a	85,95±1,11a
T6	30,20±0,94ab	67,90±2,35a	35,75±0,56d	19,26±0,32e	55,02±0,80e
T7	33,98±1,07a	79,32±3,19a	43,74±0,99b	29,12±1,42c	72,86±2,41c
<i>p</i> -valor	0,012	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Média ± erro padrão (n=5). Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste Duncan ($p \leq 0,05$). T1: controle não inoculado; T2: *R. clarus*; T3: *C. etunicatum*; T4: *R. clarus* + *C. etunicatum*; T5: *R. clarus* + *A. brasilense*; T6: *C. etunicatum* + *A. brasilense*; T7: *R. clarus* + *C. etunicatum* + *A. brasilense*.

De acordo Ali *et al.* (2023), estudos demonstram que associação da rizobactéria com FMAs em coentro (*Coriandrum sativum* L.) aumenta significativamente a altura da planta, número de galhos, peso fresco, bem como no aumento significativo do número de umbelas. Segundo Sokhangoy *et al.* (2012), estudando sobre o endro (*Anethum graveolens* L.), constatou-se que fertilizantes naturais influenciam o crescimento em associação às bactérias fixadoras de nitrogênio, favorecendo o desenvolvimento da planta.

Com relação ao índice de clorofila (IC), todos os tratamentos inoculados apresentaram valores significativamente superior ao controle, com destaque para o T7 (79,32). Estudos mencionam que, além da maior altura, clorofila a e β -caroteno, as plantas se destacam pela cor verde e por serem mais tolerantes ao estresse hídrico (Bashan *et al.*, 2006; Barassi *et al.*, 2008).

Nos tratamentos T5 (48,89) e T4 (48,86), os teores de clorofila a não apresentaram diferenças significativas, indicando que a inoculação com FMAs, isoladamente ou em combinação com *Azospirillum*, apresentou resultados semelhantes. Por outro lado, a clorofila b, pigmento acessório importante na absorção de luz e transferência de elétrons (Kluge *et al.*, 2015).

Para o tratamento T5 (37,06) aumentou significativamente a produção de clorofila b e, possivelmente, houve melhor desempenho fotossintético, sugerindo que a inoculação favoreceu uma interação mais eficiente entre os microrganismos. Resultados semelhantes foram observados por Souza *et al.* (2022), que relataram efeitos positivos da inoculação com FMAs e *Azospirillum* no crescimento, acúmulo de nutrientes como N e P, produção de biomassa e conteúdo de clorofila.

A concentração de clorofila total foi significativamente influenciada pelos tratamentos, com maiores teores observados em T5 (85,95) e T2 (80,71). Em contraste, o tratamento T3 apresentou o menor valor (51,32). De modo geral, os teores de clorofila a, b e total seguiram tendências semelhantes, com destaque para os tratamentos T5 (48,89), T4 (37,06) e T2 (85,95), que promoveram aumentos significativos em comparação ao controle (Tabela 7).

Esses resultados indicam que a inoculação, especialmente com a combinação de FMA e *A. brasilense*, promoveu maior acúmulo de pigmentos fotossintéticos, o que pode estar associado a um aumento na eficiência fotossintética e no crescimento da planta. A elevação nos teores de clorofilas reforça a hipótese de que a inoculação pode potencializar a fisiologia vegetal, contribuindo para melhor desempenho agrônômico da espécie. De acordo com Mohamed (2020), podem intensificar a atividade fotossintética das plantas, resultando em aumento dos teores de clorofila e carotenoides. Da mesma forma, o *A. brasilense* também contribui para esses benefícios (Peng *et al.*, 2021).

A produção de compostos bioativos em *L. officinale* a partir da inoculação com FMAs e *A. brasilense* exerceu influência significativa (Tabela 8).

O maior teor de flavonoides foi observado no tratamento T3 (445,96), diferindo significativamente dos demais (Tabela 8). Seguidos dos tratamentos T4 (390,02) e T5 (363,69). No tratamento T7 (289,07) houve um decréscimo significativo, inclusive no controle, o que pode indicar um possível efeito antagonista ou diluição metabólica resultante da maior massa

vegetal observada nesse tratamento. Segundo Moraes *et al.* (2022), o aumento da biomassa pode reduzir proporcionalmente a concentração de metabólitos da planta para o crescimento estrutural em detrimento da síntese de compostos antioxidantes.

Tabela 8. Teor de flavonoides (μg ácido gálico mg.MF^{-1}), compostos fenólicos totais (CFT) ($\mu\text{g/mL}^{-1}$) e antocianinas (mgL^{-1}) da planta *Levisticum officinale* inoculada ou não com FMA e *Azospirillum brasilense*.

Trat	Flavonoides	CFT	Antocianinas
T1	299,92 \pm 1,78ef	0,64 \pm 0,02c	48,38 \pm 0,23d
T2	321,22 \pm 5,66de	0,79 \pm 0,03c	53,63 \pm 1,16c
T3	445,96 \pm 8,68a	1,14 \pm 0,04b	67,07 \pm 1,91a
T4	390,02 \pm 11,46b	1,41 \pm 0,11ab	58,31 \pm 1,27b
T5	363,69 \pm 10,17c	1,64 \pm 0,26a	54,33 \pm 0,39c
T6	336,42 \pm 12,58d	1,44 \pm 0,04ab	48,64 \pm 0,99d
T7	289,07 \pm 2,56f	0,80 \pm 0,04c	46,35 \pm 0,45d
<i>p</i> -valor	<0,001	<0,001	<0,001

Média \pm erro padrão (n=5). Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste Duncan ($p \leq 0,05$). T1: controle não inoculado; T2: *R. clarus*; T3: *C. etunicatum*; T4: *R. clarus* + *C. etunicatum*; T5: *R. clarus* + *A. brasilense*; T6: *C. etunicatum* + *A. brasilense*; T7: *R. clarus* + *C. etunicatum* + *A. brasilense*.

Os flavonoides são compostos secundários amplamente distribuídos nas plantas e, segundo Zlotek *et al.* (2021) e Sahlabgi *et al.* (2025), destacam-se pela presença de quercetina, kaemferol, apigeno, ácido clorogênico, ácido cafeico e luteolina em *L. officinale*. Para Nour *et al.*, (2017), essa espécie apresenta o maior teor de compostos fenólicos e flavonoides, bem como elevada atividade antioxidante.

Estudos indicam que a rutina é considerada um dos flavonoides dominantes em *L. officinale* (Tvrdá *et al.*, 2019). Em modelos experimentais com ratos, a rutina demonstrou efeitos terapêuticos promissores no tratamento da hipertensão renovascular, atuando principalmente por meio da redução do estresse (Kaur e Muthuraman, 2016). Além disso, a intensidade luminosa pode influenciar significativamente o metabolismo secundário das plantas, modulando a biossíntese de compostos como flavonoides, terpenoides e alcaloides, efeito observado em espécies da família Apiaceae por Thoma *et al.* (2020) e Zhang (2021).

Com relação aos compostos fenólicos totais (CFT), T5 (1,64) aumentou significativamente, semelhante a T4 (1,41) e T6 (1,44) (Tabela 8). Esses resultados sugerem que a inoculação, particularmente com FMA e *A. brasilense*, pode estimular maior acúmulo de compostos fenólicos, conhecidos por seu papel antioxidante e na defesa vegetal, ou interação biológica (Cavalcante *et al.*, 2024), destacando o interesse para agricultura sustentável e a indústria farmacêutica.

Georgieva (2023) reforça os benefícios à saúde associados aos flavonoides e CFTs em *L. officinale*, os quais são atribuídos aos polifenóis presentes na planta. No entanto, alguns estudos sugerem que o excesso de atividade biológica desses compostos pode exercer efeito antagônico à microbiota benéfica do solo, como os FMAs (Ventura *et al.*, 2021; Magulska; Wesolowski, 2023) e prejudicar a comunidade fúngica. Em soja, por exemplo, os CFTs presentes em extratos de *L. officinale* induziram respostas de estresse biótico e oxidativo (Korzeniowska *et al.*, 2017; Szparaga *et al.*, 2021), o que levanta questões sobre seu uso em contextos agrícolas.

Visto que a presença de CFT nos extratos de *L. officinale* pode induzir algum tipo de estresse biótico em planta de soja, contribuindo para as condições de estresse abiótico, incluindo o estresse oxidativo (Korzeniowska *et al.*, 2017; Szparaga *et al.*, 2021). Por outro lado, os compostos fenólicos são responsáveis pelas propriedades antioxidantes das plantas (Magulska; Wesolowski, 2023).

Pertencentes ao grupo dos antioxidantes mais abundantes no mundo vegetal e consumidos nos alimentos, ainda assim, os CFT são considerados os antioxidantes mais abundantes do reino vegetal e amplamente consumidos na dieta humana, conforme destacado por Scalbert (2005). Além disso, Catunescu *et al.* (2017), observaram que a estabilidade desses compostos se mantém por vários meses, o que reforça sua viabilidade para aplicações farmacêuticas e alimentares.

Para Wani e Uppaluri (2022), o teor de umidade da própria amostra vegetal também pode influenciar a composição da biomassa, sendo que níveis mais elevados de umidade favorecem a obtenção de extratos mais ricos em compostos fenólicos em comparação com amostras secas.

Georgieva (2023) descreve que os flavonoides e CFT encontrados no *L. officinale* exercem efeitos benéficos à saúde, podendo ser devidos aos componentes polifenólicos da planta, necessitando de mais investigações. Por outro lado, estudos revelam que, devido à sua atividade biológica, pode levar ao resultado de sinergismo (Podsędek *et al.*, 2007; Magulska; Wesolowski, 2023) e prejudicar a comunidade fúngica (Ventura *et al.*, 2021). Catunescu *et al.* (2017) destacaram outro fator relevante, em que a concentração das substâncias fenólicas permanece estável mesmo após vários meses de armazenamento.

Quanto ao teor de antocianinas, o tratamento T3 (67,07) aumentou significativamente, seguido de T4 (58,31) (Tabela 8). A elevada produção de antocianinas nesses tratamentos pode estar relacionada à maior indução de respostas secundárias em plantas micorrizadas,

especialmente em cenários de maior estímulo simbiótico, onde nesse processo com inóculo *A. brasilense* não apresentou uma interação eficaz, mostrando-se menos eficiente.

De acordo com Asuero e Moreto (2021), a presença de microrganismos benéficos pode ativar vias metabólicas associadas à biossíntese de compostos fenólicos, como as antocianinas, que desempenham papel antioxidante e protetor frente a estresses ambientais. Por outro lado, o inóculo com *A. brasilense* não demonstrou interação eficaz nesse contexto, mostrando-se menos eficiente na indução desses metabólitos.

Estudos indicam que as antocianinas desempenham um papel crucial na proteção das plantas contra a radiação UV, contribuem para sua adaptação ao estresse abiótico e biótico e retardam o processo de senescência (Landi *et al.*, 2015; Steyn *et al.*, 2002). Além disso, essas substâncias oferecem benefícios à saúde devido às suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (Palungwachira, 2019; Wang *et al.*, 2022).

De acordo com Abdel *et al.* (2018) e Georgieva (2023), estudos demonstram que as antocianinas podem suprimir a atividade dos osteoclastos e estimular a função dos osteoblastos, contribuindo para a prevenção da osteoporose. No entanto, informações específicas sobre antocianinas presentes em *L. officinale* ainda são limitadas.

As atividades antioxidantes avaliadas por FRAP, DPPH, bem como os teores de β -caroteno e carotenoides totais em *L. officinale* foram significativamente influenciadas pelos tratamentos com FMAs e *A. brasilense* (Tabela 9).

Tabela 9. Atividade ferric reducing antioxidant power (FRAP) ($\mu\text{mol Trolox mg MF}^{-1}$), radical de nitrogênio (DPPH) ($\mu\text{mol Trolox mg MF}^{-1}$), β -caroteno ($\mu\text{g/mL}$), Carotenoide Total ($\mu\text{g/g}$) da planta *Levisticum officinale* inoculada ou não com FMA e *Azospirillum brasilense*.

Trat	FRAP	DPPH	β -caroteno	Caro Total
T1	3,37 \pm 0,11bc	5,68 \pm 0,04d	75,73 \pm 0,98b	29,87 \pm 0,12d
T2	2,85 \pm 0,07c	6,06 \pm 0,32cd	77,91 \pm 0,40b	36,13 \pm 0,39b
T3	4,99 \pm 0,27a	9,29 \pm 0,34a	83,31 \pm 0,55a	27,02 \pm 1,30e
T4	3,59 \pm 0,11b	7,11 \pm 0,40bc	84,95 \pm 0,81a	39,93 \pm 1,08a
T5	4,92 \pm 0,50a	9,87 \pm 0,72a	77,47 \pm 0,84b	38,49 \pm 0,58a
T6	3,50 \pm 0,12bc	7,07 \pm 0,31bc	83,35 \pm 0,85a	26,06 \pm 0,30e
T7	2,80 \pm 0,09c	7,67 \pm 0,20b	75,38 \pm 1,22b	32,70 \pm 0,76c
<i>p</i> -valor	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Média \pm erro padrão (n=5). Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste Duncan ($p \leq 0,05$). T1: controle não inoculado; T2: *R. clarus*; T3: *C. etunicatum*; T4: *R. clarus* + *C. etunicatum*; T5: *R. clarus* + *A. brasilense*; T6: *C. etunicatum* + *A. brasilense*; T7: *R. clarus* + *C. etunicatum* + *A. brasilense*.

Estudos sobre o potencial do *L. officinale* considerando seu teor polifenólico indicam que ele possui propriedades eficazes na eliminação de radicais livres, conforme demonstrado

pelas análises FRAP e DPPH, nas quais esses efeitos podem estar correlacionados à elevada concentração de substâncias fenólicas (Papuc *et al.*, 2020).

A atividade antioxidante pelo método FRAP foi aumentada significativamente nos tratamentos T3 (4,99) e T5 (4,92) (Tabela 9). Esses mesmos tratamentos também se destacaram na atividade DPPH, indicando um aumento na capacidade de eliminação de radicais livres e evidenciando o potencial sinérgico da inoculação para promover a atividade antioxidante. Por outro lado, é possível que *A. brasilense* tenha desempenhado um papel na estimulação de antioxidantes, assim como em estratégias de defesa (Pagnussat *et al.*, 2023). Frente aos resultados apresentados, observa-se uma correlação positiva entre as análises de FRAP e DPPH.

Estudos indicam que a capacidade antioxidante pode estar vinculada à concentração de substâncias fenólicas do *L. officinale* (Papuc, 2020), como ácido cafeico clorogênico e ferúlico, que são reconhecidas devido suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, contribuindo para proteção celular contra danos causados por radicais livres e promovendo benefício à saúde, especialmente no sistema cardiovascular e na pele (Tajner *et al.*, 2020; Georgieva, 2023).

Os teores de β -caroteno foram significativamente superior nos tratamentos T4 (84,95), T6 (83,35) e T3 (83,31), em relação aos demais tratamentos e ao controle, resultado que pode estar associado à melhoria nutricional e ao aumento da atividade enzimática. Essa elevação pode ser atribuída ao efeito sinérgico entre os FMAs e a bactéria promotora de crescimento *A. brasilense*.

Já o Carotenoide total, o tratamento T4 (39,93) apresentou o maior valor, provavelmente devido à colonização mais eficiente do solo e das raízes, promovendo condições favoráveis para a síntese desses compostos. Por outro lado, o tratamento T6 (26,06) revelou menor teor total de carotenoides, sugerindo que, embora tenha promovido crescimento e absorção de nutrientes, a interação entre os FMAs e *A. brasilense* pode não ter sido suficientemente eficaz para direcionar o metabolismo secundário à produção de carotenoides. É importante considerar que tanto o β -caroteno quanto os carotenoides estão envolvidos em processos como a biodisponibilidade, o metabolismo lipídico e a interação com outros nutrientes (Bufka *et al.*, 2024).

De acordo com Spréa *et al.* (2020a, b), estudos demonstram que o extrato de *L. officinale* exerce efeitos hepatoprotetores na hepatotoxicidade induzida por CCl₄, por meio de atividades antioxidantes, anti-inflamatórias e antifibróticas em ratos (Ghaedi *et al.*, 2024). Além de grande potencial no tratamento do câncer, onde Sargazi *et al.* (2024) relatam seu estudo anti-inflamatório e apoptótico do extrato de *L. officinale* influência na expressão do gene

relacionado à apoptose em linhagens celulares de carcinoma colorretal humano no HT 29 e Caco-2.

De forma geral, os dados sugerem que as respostas antioxidantes e o acúmulo de pigmentos carotenoides em *L. officinale* estão diretamente associados a combinações específicas de microrganismos. Os tratamentos T4 e T5 foram promissores na indução de compostos bioativos com função antioxidante como β -caroteno, carotenoides e fenólicos.

Vale destacar que, embora o β -caroteno seja amplamente valorizado pelas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética, cerca de 98% do β -caroteno comercializado ainda é obtido por síntese química, enquanto apenas 2% provêm de fontes naturais (Ebadi *et al.*, 2023). Essa realidade tem impulsionado pesquisas voltadas à extração vegetal e à produção biotecnológica de carotenoides, especialmente por microrganismos cultivados em condições controladas, que oferecem maior estabilidade e sustentabilidade (Di Salvo *et al.*, 2023).

Segundo Tvrdá (2019), o extrato de *L. officinale* possui a capacidade de reduzir a pressão arterial, auxiliar na digestão e na secreção biliar, regular o ciclo menstrual e atuar como afrodisíaco. Em sua pesquisa, a autora também relata efeitos sobre a atividade dos espermatozoides bovinos, indicando que, em concentrações baixas, o extrato age como estimulante, enquanto concentrações elevadas podem causar toxicidade, comprometendo a sobrevivência celular.

Em análise dos teores de açúcares totais, redutores e não redutores em *L. officinale*, a inoculação com FMAs e *A. brasilense* influenciou significativamente (Tabela 10).

Tabela 10. Análise de açúcar total (AcTot), açúcar redutor (AcRed) e açúcar não redutor (AcNred) da planta *Levisticum officinale* inoculada ou não com FMA e *Azospirillum brasilense*.

Trat	AcTot	AcRed	AcNred
T1	28,97±0,10bc	3,87±0,59c	25,09±0,12bc
T2	27,79±0,25bc	3,90±0,19c	23,88±0,22bc
T3	33,32±0,57a	4,78±0,32b	28,54±0,51a
T4	29,53±0,93b	3,48±0,27c	26,04±0,98b
T5	27,00±0,28c	4,31±0,44bc	22,68±0,63c
T6	32,74±0,93a	7,60±0,32a	25,13±0,87bc
T7	35,07±1,42a	4,35±0,16bc	30,71±1,46a
<i>p</i> -valor	<0,001	<0,001	<0,001

Média ± erro padrão (n=5). Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste Duncan ($p \leq 0,05$). T1: controle não inoculado; T2: *R. clarus*; T3: *C. etunicatum*; T4: *R. clarus* + *C. etunicatum*; T5: *R. clarus* + *A. brasilense*; T6: *C. etunicatum* + *A. brasilense*; T7: *R. clarus* + *C. etunicatum* + *A. brasilense*.

O teor de açúcar total foi aumentado significativamente maior no tratamento T7 (35,07), provavelmente devido ao efeito sinérgico entre os três microrganismos, o que favoreceu um metabolismo mais ativo e eficiente na acumulação de açúcar.

Nos tratamentos T3 (33,32) e T6 (32,74), também foram observados aumentos significativos, sugerindo que o FMA *C. etunicatum* exerce papel central nesse processo, tanto isoladamente quanto em associação. Em contraste, o menor teor foi registrado em T5 (27,00), indicando possível incompatibilidade ou sinergia ilimitada entre os microrganismos presentes, o que pode ter reduzido a eficiência metabólica voltada à síntese e ao acúmulo de açúcares.

Em relação aos açúcares redutores, o tratamento T6 (7,60) aumentou significativamente em relação aos demais tratamentos, principalmente T4 (3,48). Esse resultado pode estar relacionado à maior eficiência do FMA *C. etunicatum* e *A. brasilense* juntos potencializam maior efeito do desenvolvimento radicular e regulam genes ligados ao metabolismo de carboidratos, favorecendo não apenas o acúmulo de açúcares totais, mas também a conversão para açúcares redutores, refletindo um metabolismo primário mais ativo.

Já no tratamento T4, o menor acúmulo de açúcares redutores pode estar relacionado a diferenças na eficiência de colonização e possivelmente uma competição entre os dois FMAs reduzindo a efetividade da interação simbiótica e conseqüentemente o estímulo ao metabolismo de açúcares (Wang *et al.*, 2023) (Tabela 10).

Quanto aos açúcares não redutores, foram aumentados significativamente nos tratamentos T7 (30,71) e T3 (28,54), o que reforça a tendência observada para o aumento do acúmulo de reservas energéticas em plantas inoculadas com *C. etunicatum*, isoladamente ou em combinação. Enquanto os tratamentos T5 (22,68) e T2 (23,88), ambos contendo *R. clarus*, diminuíram significativamente, o que pode sugerir menor eficiência dessa espécie fúngica na promoção da síntese ou mobilização de açúcares não redutores.

Esses resultados indicam que diferentes combinações de microrganismos modulam o metabolismo de carboidratos em *L. officinale*, com destaque para *C. etunicatum* como agente promotor de acúmulo de açúcares, especialmente quando associado ao *A. brasilense*. Estudo indica que a planta contém açúcares livres, incluindo açúcares redutores e açúcares totais, desempenha um papel essencial na compreensão do seu valor nutricional, além disso, esses compostos apresentam um grande potencial para aplicações na indústria alimentícia e farmacêutica (Silva; Pereira, 2020).

A interação entre o FMAs e o *A. brasilense* baseia-se em fatores biológicos e fisiológicos que favorecem condições ideais para o desenvolvimento das plantas. Como conseqüência, um aumento significativo na produção de açúcares livres e complexos, essenciais

para o metabolismo e crescimento vegetal, esse fenômeno exemplifica como as parcerias microbianas podem impulsionar a agricultura sustentável (Fontes; Inglis, 2020).

Para identificar as diferenças entre os tratamentos e a interação entre os FMAs e o *A. brasilense* neste estudo com *L. officinale*, foi realizada a análise de dendrograma por meio do mapa de calor (Figura 1). Onde apresenta tratamentos e compostos bioativos que fornecem informações essenciais sobre como os inoculantes microbiológicos influenciam o metabolismo das plantas, além de favorecer a produção de compostos nutricionais e antioxidantes.

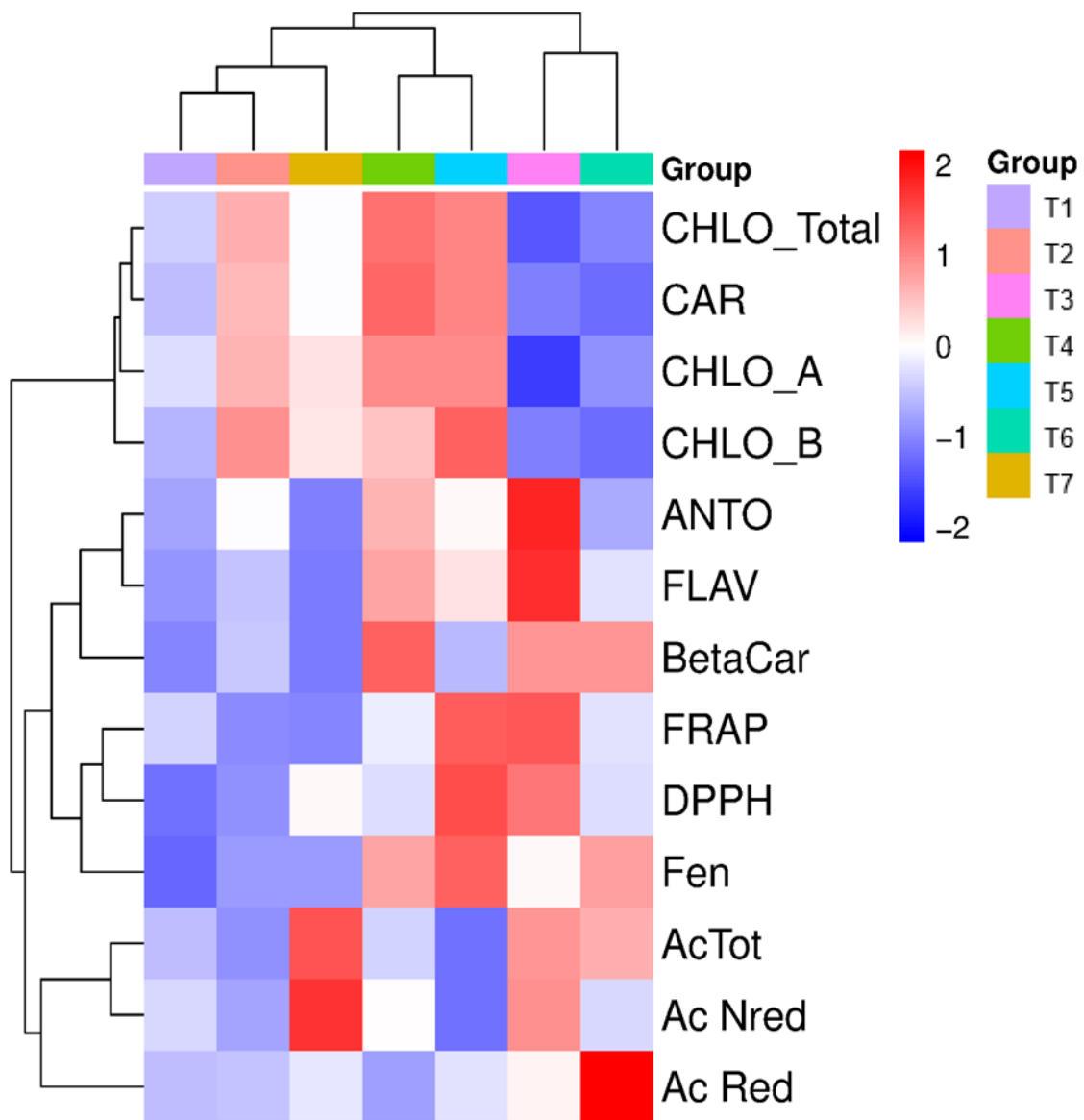


Figura 1: Dendrograma dos tratamentos T1: controle não inoculado; T2: *R. clarus*; T3: *C. etunicatum*; T4: *R. clarus* + *C. etunicatum*; T5: *R. clarus* + *A. brasilense*; T6: *C. etunicatum* + *A. brasilense*; T7: *R. clarus* + *C. etunicatum* + *A. brasilense*.

De acordo com os parâmetros de análise hierárquica, o tratamento controle (T1) revelou uma distinção clara em relação aos demais, indicando que a aplicação de inoculantes e fungos

micorrízicos exerce um impacto significativo na produção de compostos bioativos e na composição nutricional das plantas. Esse efeito é particularmente evidente em compostos como clorofilas, carotenoides e açúcares, essenciais para o crescimento e desenvolvimento vegetal.

Esses resultados ressaltam a relevância dos tratamentos microbiológicos na otimização das respostas fisiológicas das plantas, superando as condições observadas no tratamento controle.

Os tratamentos com T2 e T3 apresentaram respostas significativamente semelhantes, com efeitos positivos em ambos os casos. No entanto, esses efeitos foram menos expressivos quando comparados às combinações envolvendo esses microrganismos (Figura 1).

A análise indicou que esses microrganismos atuam de forma sinérgica em compostos bioativos como flavonoides, carotenoides e antocianinas, sugerindo que, embora o uso isolado possa promover benefícios, os impactos mais relevantes são alcançados por meio da coinoculação.

A combinação no tratamento T5 revelou-se especialmente interessante, formando um grupo relativamente distinto e demonstrando que a interação entre esses dois fungos micorrízicos exerce uma influência específica sobre compostos como açúcares redutores e fenólicos totais, conhecidos por suas propriedades antioxidantes.

Resultados semelhantes foram observados nos tratamentos T3 e T6, ambos em combinação de *C. etunicatum* + *A. brasilense*, os quais não apenas promoveram um aumento nos níveis de compostos antioxidantes, como também contribuíram significativamente para a melhoria na assimilação de nutrientes.

A interação tripla observada no tratamento T7 mostrou-se a mais promissora. A sinergia entre esses três organismos resultou em um efeito positivo, evidenciado pelo aumento de compostos antioxidantes, como FRAP, DPPH e outros.

Esses compostos desempenham um papel essencial na proteção contra o estresse oxidativo, contribuindo para uma maior resistência das plantas a condições ambientais adversas, além de favorecer o crescimento e a produtividade.

Além disso, os compostos relacionados aos açúcares, como açúcar total, açúcar redutor e açúcar não redutor (AcNred), apresentaram variações significativas em resposta aos tratamentos microbiológicos. Os tratamentos combinados demonstraram maior eficiência na assimilação de açúcares, fundamentais para o metabolismo energético das plantas.

Esses resultados fornecem insights valiosos para a adoção de estratégias de manejo agrícola que integram inoculantes microbiológicos. A combinação utilizada no tratamento T7 destaca-se como uma abordagem promissora para potencializar a produção de compostos

bioativos essenciais, além de fortalecer a resistência das plantas a estresses ambientais. A sinergia entre esses microrganismos indica que uma abordagem integrada pode ser mais eficaz na promoção da saúde e produtividade vegetal, com implicações diretas para o desenvolvimento de práticas agrícolas mais sustentáveis e eficientes.

Vale ressaltar que esses resultados não apenas expandem o conhecimento sobre a interação entre microrganismos e plantas, mas também oferecem uma base sólida para pesquisas futuras voltadas à otimização do uso de inoculantes microbiológicos em sistemas agrícolas. Onde o foco está na melhoria da qualidade dos cultivos e na promoção de uma produção agrícola mais sustentável.

Para análise de componentes (PCA), revelou que os dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) explicam 71,1% da variação total dos dados, com PC1 contribuindo com 40,3% e PC2 com 30,8% (Figura 2). Esses resultados indicam que essas duas dimensões capturam uma parte significativa da variabilidade nas respostas fisiológicas e bioquímicas decorrentes da interação entre os FMAs e *A. brasilense*.

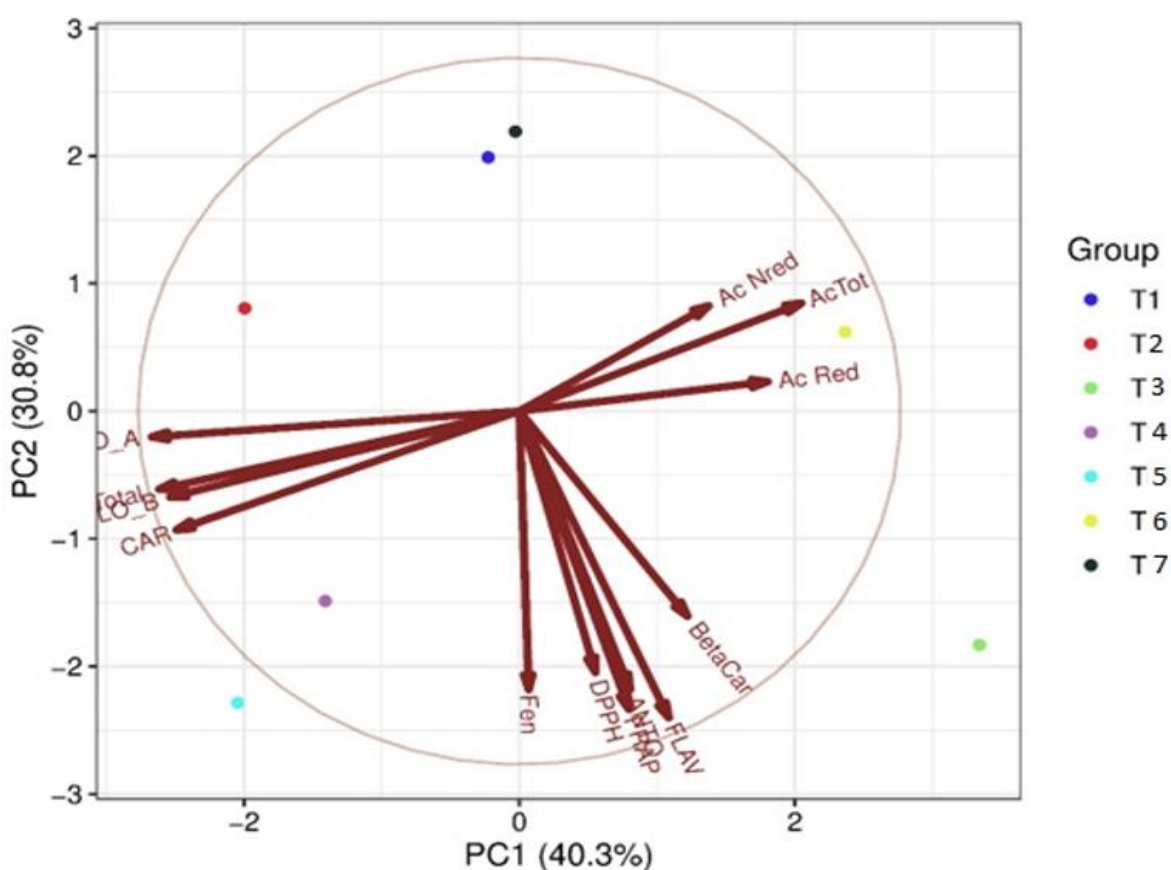


Figura 2. Análise de componentes principais (PCA) referente a resposta da *Levisticum officinale* à inoculação de fungos micorrízicos e *Azospirillum brasilense* e sua atividade antioxidante. T1: controle não inoculado; T2: *R. clarus*; T3: *C. etunicatum*; T4: *R. clarus* + *C. etunicatum*; T5: *R. clarus* + *A. brasilense*; T6: *C. etunicatum* + *A. brasilense*; T7: *R. clarus* + *C. etunicatum* + *A. brasilense*.

Os tratamentos exibem uma separação distinta refletindo diferentes padrões de resposta ao estimulante, em que o tratamento T5 posiciona-se mais próximo do centro da distribuição, sugerindo uma resposta equilibrada relativamente às variáveis analisadas. Em contraste, os tratamentos T4 e T6 estão localizados em extremos opostos, indicando pouca interação entre os tratamentos (Figura 2).

Variáveis como T7 possuem correlações positivas entre si, se agrupando e estando fortemente associadas ao PC1, indicando maior concentração em relação aos outros tratamentos (Figura 2).

Por outro lado, os índices de flavonoides, antocianinas, β -caroteno, FRAP, Dpph, compostos fenólicos, estão agrupados em maiores quantidades, evidenciando a interação entre os tratamentos, tendo como destaque para flavonoides e FRAP indicando uma maior variação o entre os tratamentos.

Nos tratamentos T3 e T4 observa-se um agrupamento mais próximo entre si, indicando que esses FMAs, quando aplicados isoladamente, exercem efeitos semelhantes sobre os compostos bioativos das plantas. No entanto, os tratamentos combinados, como T5 e T7, apresentam uma variação mais complexa, sugerindo interações sinérgicas entre os microrganismos que influenciam a produção de compostos antioxidantes, como flavonoides, carotenoides, e fenólicos totais.

Os tratamentos T4 apresentam perfis intermediários, com contribuições expressivas de β -caroteno e flavonoides (Figura 2). Isso sugere que o *A. brasilense* exerce um efeito significativo sobre esses compostos, enquanto sua interação com os FMAs é capaz de potencializar esses efeitos. Esses resultados indicam que a combinação de *A. brasilense* com *R. clarus* ou *C. etunicatum* pode otimizar a produção de compostos antioxidantes, fortalecendo a resistência das plantas ao estresse oxidativo e melhorando a assimilação de nutrientes.

Portanto, a análise de PCA evidencia que as combinações de inoculantes microbiológicos exercem um efeito sinérgico sobre as plantas, impulsionando a diversidade de compostos bioativos e fortalecendo sua resposta a condições ambientais adversas.

O controle (T1) apresentou um afastamento significativo dos demais, sugerindo que a inoculação com microrganismos induz alterações metabólicas significativas nas plantas. Esses resultados reforçam a importância de estratégias integradas de inoculação para promover a saúde vegetal e aprimorar a sustentabilidade agrícola.

4. CONCLUSÃO

A interação dos FMAs no tratamento T7 promoveu aumento significativo no crescimento de *L. officinale* e acúmulo de biomassa, evidenciando seu potencial para aplicações voltadas à produtividade.

Por outro lado, os parâmetros bioquímicos, como concentração de flavonoides, compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante, foram mais expressivos nos tratamentos T3, em combinação com T4 ou na combinação com o tratamento T5, indicando que, embora a coinoculação tripla favoreça o desenvolvimento físico das plantas, os efeitos mais relevantes sobre a qualidade funcional e nutricional obtidos com combinações específicas ou com o uso isolado de determinados microrganismos.

Isso evidencia que maiores produtividades não necessariamente refletem melhor qualidade fitoquímica. Assim, a escolha do tratamento ideal dependerá dos objetivos do cultivo, enquanto o T7 pode ser mais vantajoso para a produção de biomassa, tratamentos como o T3 e o T5 podem ser mais indicados para fins medicinais e industriais.

Portanto, é fundamental destacar a importância de investigar e adotar novas estratégias que conciliam produtividade e sustentabilidade.

5. REFERÊNCIAS

- Abdallah, E. M.; Alhatlani, B. Y.; de Paula, M. R.; Martins, C. H. G. (2023). Back to nature: medicinal plants as promising sources for antibacterial drugs in the post-antibiotic era. *Plants*, v. 12, p.3077. Doi: 10.3390/plants12173077.
- Abdel-Naim, A. B.; Alghamdi, A. A.; Algandaby, M. M.; Al-Abbasi, F. A.; Al-Abd, A. M.; Eid, B. G.; Abdallah, H. M.; El-Halawany, A. M. (2018). Rutin isolated from *Chrozophora tinctoria* enhances bone cell proliferation and ossification markers, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2018, n. 1, p. 5106469. <https://doi.org/10.1155/2018/5106469>
- Ali, M. A. M.; Hassan, E. A.; El-Gohary, A. I.; Ibrahim, S. A. I.; Soliman, T. M. A. (2023). Response of Coriander plants to some organic and biofertilizer treatments. *New Valley Journal of Agricultural Science*. n. 3, v. 10, p. 80–94.
- Alipour, A.; Rahimi, M. M.; Hosseini, S. M. A.; Bahrani, A. (2021). Mycorrhizal fungi and growth-promoting bacteria improves fennel essential oil yield under water stress. *Industrial Crops and Products*, 170, 113792. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113792>
- Al-Snafi, A. E. (2017). Medicinal plants possessed antioxidant and free radical scavenging effects (part 3)-A review. *IOSR Journal of Pharmacy*, v. 7, n. 4, p. 48–62. Doi:10.9790/3013-0704014862
- Asuero, A. G.; Moretto, L. D. (2021) Antocianinas e ciências farmacêuticas. *Ciências Farmacêuticas*. Revista UpPharma, Academia de Ciências Farmacêuticas do Brasil. Disponível: <https://cienciasfarmaceuticas.org.br/>. Acesso: 20 ago. 2025.
- Barassi, C. A.; Sueldo, R. J.; Creus, C. M.; Carrozzi, L. E.; Casanovas, W. M.; Pereyra, M. A. (2008). Potencialidad de *Azospirillum* en optimizer el crecimiento vegetal bajo condiciones adversas. In: Cassán, F. D.; Garcia de Salamone, I. *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, p. 49 – 59.
- Barbosa, J. Z.; Mariangela, H.; Sena, J. V. S.; Poggere, G.; Reis, A. R.; Corrêa, R. S. (2021). Meta-analysis reveals benefits of co-inoculation of soybean with *Azospirillum brasilense* and *Bradyrhizobium spp.* in Brazil. *Applied Soil Ecology*. v. 163, p. 103–913. Doi: 10.1016/j.apsoil.2021.103913
- Bashan, Y.; Bustollos, J. J.; Leyva, L. A.; Hernandez, J. P.; Bacilio, M. (2006). Increase in auxiliary photoprotective photosynthetic pigments in wheat seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. *Biology and Fertility of Soils*, v. 42, p. 279–285. Doi: 10.1007/s00374-005-0025-x
- Beebe, K. R.; Pell, R. J.; Seasholtz, M. B. (1998). *Chemometrics: A Practical Guide*. John Wiley & Sons, New York, p. 1–180.
- Berude, M. C.; Almeida, D. S.; Riva, M. M.; Cabanêz, P. A.; Amaral, A. A. (2015). Micorrizas e sua importância agroecológica. *Enciclopédia biosfera*, v. 11, n. 22; p. 132–146.

Beruti, A.; Munini, E.; Balestrini, R.; Bianciotto, V. (2016). Arbuscular mycorrhizal fungi as natural biofertilizers: Let's benefit from past successes. *Frontiers in microbiology*, v. 6, p. 1559. Doi: 10.3389/fmicb.2015.01559

Botelho, G. R.; Silva, B. M. (2023). Rizobactérias: uma visão geral da importância para plantas e agrossistemas. *Ambientes em Movimento*, v. 1, n. 3, p. 22–46.

Branco, L. H. Z.; Almeida, G. C. (2023). Crostas biológicas de solo: conceitos, diversidade, e importância na proteção e recuperação de áreas. In: *Tópicos em Ciência do Solo*. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v. 12, p. 27–53.

Botelho, F. Levístico, uma planta útil para a saúde. *Revista Jardins*. Disponível: <<https://revistajardins.pt/levistico-planta-util-saude/>> Acesso: 13 abr. 2025.

Bufka, J.; Vaňková, L.; Sýkora, J.; Křížková, V. (2024). Exploring carotenoids: Metabolism, antioxidants, and impacts on human health. *Journal of Functional Foods*. v. 118, 106284. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2024.106284>

Brundrett M. (2009). Mycorrhizas in natural ecosystems. In “Advances in ecological research”. (In: Begon, M.; Fitter, A. H.; Macfadyen, A.) Academic Press Limited. v. 21, p. 171–313.

Cassán, F.; Coniglio, A.; López, G. (2020). Everything you must know about *Azospirillum* and its impact on agriculture and beyond. *Biology and Fertility of Soils*, v. 56, p. 461–479. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00374-020-01463-y>

Cartunescu, G. M.; Rotar, I.; Vidican, R.; Rotar, A. M. (2017). Effect of cold storage on antioxidants from minimally processed herbs, *Scientific Bulletin (Series F, Biotechnologies)*. v. 21, p. 121–126.

Cavalcante, M. A.; Borges, W. L.; Souza, T. M. (2024). Phenolic compounds from vegetables: a review of methods for quantifying and evaluating antioxidant and antimicrobial properties. *Peer Review*, v. 6, n. 10. Doi 10.53660

Costa, R. S. C.; Mendes, A. M.; Rodrigues, V. G. S.; Leônidas, F. C. (2013). Micorrizas arbusculares em sistemas agroflorestais. Porto Velho: Embrapa Rondônia. n. 156, p. 18.

Costa, M. M. M. N.; Barros, M. A. L.; Freire, R. M. M. (2023). Biofertilizantes. Embrapa Campina Grande, PB. 1ªed. n. 292, p. 13.

Cui, Q.; Liu, D.; Chen, H.; Qiu, T.; Zhao, S.; Duan, C.; Cui, Y.; Zhu, X.; Chao, H.; Wang, Y. (2023). Synergistic interplay between *Azospirillum brasilense* and exogenous signaling molecule H₂S promotes Cd stress resistance and growth in pak choi (*Brassica chinensis* L.) *Journal of Hazard Materials*, v. 444, part B:130425. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.130425>

Chaachouay N, Zidane L. (2024). Plant-derived natural products: a source for drug discovery and development. *Drugs and Drug Candidates*, v. 3, p. 184–207. Doi: 10.3390/ddc3010011

Di Salvo, E.; Lo Vecchio G.; De Pasquale, R.; De Maria, L.; Tardugno, R.; Vadaià, R.; Cícero, N. (2023). Natural pigments production and their application in food, health and other industries. *Nutrients*, v. 15, n. 8, p. 1923. <https://doi.org/10.3390/nu15081923>

Ebadi, M.; Mohammadi, M.; Pezeshki, A.; Jafari, S. M. (2023). Benefícios do Betacaroteno para a Saúde. *Handbook of Food Bioactive Ingredients: Properties and Applications*, editado por Jafari S. M.; Rashidinejad A.; Gandara J.S., 1–26. Springer International Publishing. v. 1, p. 26.

Ferrari, M. P. S.; Cruz, R. M. S.; Queiroz, M. S.; Andrade, M. M.; Alberton, O., Magalhães, H. M. (2020). Efficient ex vitro rooting, acclimatization, and cultivation of *Curcuma longa* L. from mycorrhizal fungi. *Journal of Crop Science Biotechnology*, v. 23, p. 469–482. <https://doi.org/10.1007/s12892-020-00057-2>

Ferreira, D. A.; Carneiro, M. A. C.; Junior, O. J. S. (2012). Fungos micorrízicos arbusculares em um Latossolo Vermelho sob manejos e usos no Cerrado. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 36, p. 51–61. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832012000100006>

Fontes, E. M. G.; Inglis, M. C. V. (2020). Controle biológico de pragas da agricultura. Embrapa, Brasília, DF. Disponível: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/> Acesso: 17 abr. 2025.

Francis, F. J. (1982). Analysis of anthocyanins. In: Markakis, P. (Ed.). *Anthocyanins as food colors*. New York: Academic Press. p. 181–207.

Gabriela, D. B.; Horacio, A.; Valeria, G. B.; Pablo, G.; Eleodoro, D. V.; Celia, B. W. (2023). *Azospirillum* sp. and mycorrhizal fungi: key microorganisms in sustainable agriculture. *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*. v. 10, n. 6, p. 199–204. Doi: 10.15406/jabb.2023.10.00349

Gavilantes, F. Z.; Andrade, D. S.; Zucareli, C.; Horácio, E. H.; Yunes, J. S.; Barbosa, A. P.; Alves, L. A. R.; Cruzatti, L. G.; Maddela, N. R.; Guimarães, M. F. (2020). Co-inoculation of *Anabaena cylindrica* with *Azospirillum brasilense* increases maize grain yield. *Rhizosphere*, v. 15, p. 1–29.

Gerdemann, J. W.; Nicolson, T. H. (1963). Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*. v. 46, p. 235–246. [https://doi.org/10.1016/S00071536\(63\)80079-0](https://doi.org/10.1016/S00071536(63)80079-0)

George, N. P.; Ray, J. G. (2023). The inevitability of arbuscular mycorrhiza for sustainability in organic agriculture—a critical review. *Frontiers in Sustainable Food Systems*. v. 7, 1124688. Doi: 10.3389/fsufs.2023.1124688

Georgieva, A. (2023). Potential health benefits of the plant *Levisticum officinale* (lovage) in relation to its polyphenolic content. *Acta Scientifica Naturalis*, v. 10, n. 1, p. 16–36, 2023. Doi: 10.2478/asn-2023-0003

Giovannetti, M.; Mosse, B. A. (1980). Evaluation of techniques for measuring VA mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, v. 84, p. 489–500. <http://www.jstor.org/stable/2432123>

Ghaedi, N.; Pouraboli I.; Askari, N. (2020). Antidiabetic properties of hydroalcoholic leaf and stem extract of *Levisticum officinale*: an implication for α -amylase inhibitory activity of extract ingredients through molecular docking. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. v. 1, n. 19, p. 231–231. Doi: 10.22037/ijpr.2020.15140.12901

Ghaedi, N.; Pouraboli, I.; Mitrtadzadini, M.; Moeini-Aghtaie, M. (2024). *Levisticum officinale* extract protects against CC14-induced hepatotoxicity through anti-inflammatory, antifibrotic and antioxidant properties in rats. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. v. 16 n. 8, p. 331–340. Doi: 10.4103/apjtb.apjtb_149_24

Grover, M.; Bodhankar, S.; Sharma, A.; Sharma, P.; Singh, J.; Nain, L. (2021). PGPR mediated alterations in root traits: way toward sustainable crop production. Frontiers in Sustainable Food Systems, 4, 618230. Doi: 10.3389/fsufs.2020.618230

Harrison, M. J. (2005). Signaling in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. Annual Review of Microbiology. v. 59, p. 19–42. Doi: 10.1146/annurev.micro.58.030603.123749

Hungria, M. (2022). Avanços no uso de bactérias promotoras do crescimento de plantas: o caso do *Azospirillum brasilense* no Brasil. Embrapa Soja. Documentos, 447. Londrina: Embrapa. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1144445>>. Acesso: 28 mai. 2025.

Jacoby, R.; Peukert, M.; Succurro, A.; Koprivova, A.; Kopriva, S. (2017). The role of soil microorganisms in plant mineral nutrition-current knowledge and future directions. Frontiers in Plant Science, v. 8, p.1617. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01617>

Jakubczyk, A.; Złotek, U.; Szymanowska, U.; Rybczyńska-Tkaczyk, K.; Jęderka, K.; Lewicki, S. (2020). In vitro antioxidant, anti-inflammatory, anti-metabolic syndrome, antimicrobial, and anticancer effect of phenolic acids isolated from fresh lovage leaves [*Levisticum officinale* Koch] elicited with jasmonic acid and yeast extract. Antioxidants. v. 9, 554. <https://doi.org/10.3390/antiox9060554>, 554

Jenkinson, D.S.; Powlson, D. S. (1976). The effects of biocidal treatments on metabolism in soil–V: A method for measuring soil biomass. Soil Biology & Biochemistry, n. 8, p: 209–213. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(76\)90005-5](https://doi.org/10.1016/0038-0717(76)90005-5)

Júnior, G. A. G.; Pereira, R. A.; Sodr e, G. A.; Sacramento, C. K.; Gross, E. (2018). Absorption of nutrients by soursop seedlings in response to mycorrhizal inoculation and addition of organic compost. Pesquisa Agropecu ria Tropical. v. 48, n. 3, p. 287-294.

J rkenbeck, K.; Spiller, A. (2020). Consumers' evaluation of stockfree-organic agriculture - a segmentation approach. Sustainability. v. 12, n. 10, e4230. <https://doi.org/10.3390/su12104230>

Kadam, A.; Vyas, J. K.; Wankhade, A.; Paithankar, V. (2023). A review on *Swertia chirayita*: Phytochemistry and various pharmacological activities. Journal of Pharmaceutical Advanced Research. v. 6, n. 3, p. 1832–1838.

Kaur, S.; Muthuraman, A. (2016). Therapeutic evaluation of rutin in two-kidney one-clip model of renovascular hypertension in rat. Life Sciences. v. 150, n. 1, p. 89–94. Doi: 10.1016/j.lfs.2016.02.080

Khammassi, M.; Mighri, H.; Ben M.; M. Khaldi. (2022). Perfil metabólico e potencial atividade antioxidante de dezesseis populações de funcho (*Foeniculum vulgare* Mill.) crescendo selvagem na Tunísia. *South African Journal of Botany*. v. 148, p. 407–414.

Kemzuraite, A.; Venskutonis, P. R.; Baranauskiene, R.; Navikiene, D. (2014). Optimization of supercritical CO₂ extraction of different anatomical parts of lovage (*Levisticum officinale* Koch.) using response surface methodology and evaluation of extracts composition, *Journal of Supercritical Fluids*, v. 87, p. 93–103.

Khodashenas, M.; Keramat, B.; Emamipoor, Y. (2015). Germination response of endangered medicinal plant, *Levisticum officinale*, to stratification and some plant growth regulators, *Journal of Biodiversity and Environmental Science*, v. 7, n. 3, p. 228–235.

Koleva, I. I.; Beek, T. A. V.; Linssen, J. P. H.; Groot, A. de.; Evstatieva, L. N. (2002). Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, v. 13, n. 1, p. 8–17.

Korzeniowska, K.; Żmudzki, S.; Ambroziak, K.; Wieczorek, P. P. (2017). Use of plant extracts containing phenolic compounds in organic agriculture. *Przemysł Chemiczny*, v. 96, n. 7, p. 1518–1522. <https://doi.org/10.15199/62.2017.7.15>

Kluge, R. A.; Uliana, J. V. T.; Silva, P. P. M. (2015). Aspectos fisiológicos e ambientais da fotossíntese. *Revista virtual de química*, v. 7, n. 1, p. 56–73.

Landi, M.; Tattini, M.; Gould, K. S. (2015). Multiple functional roles of anthocyanins in plant-environment interactions. *Environmental and Experimental Botany*. v. 119, p. 4–17. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.05.012>

Laurindo, L. K.; Cruz, S. P. (2024). Inoculação com bactérias promotoras de crescimento e fungos micorrízicos arbusculares reduzem a demanda de fertilizantes em alface. *Pesquisa Agropecuária Tropical*. V. 54, p. 79375. Disponível em: <http://revistas.ufg.br/pat/article/view/79375>. Acesso: 20 ago. 2025.

Lermen C.; Cruz, R. M. S.; Souza, J. S.; Marchi, B. A.; Alberton, O. (2017). Growth of *Lippia alba* (Mill.) NE Brown inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi with different levels of humic substances and phosphorus in the soil. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, v. 7, p. 48–53. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2017.05.002>

Lichtenthaler, H. K.; Welburn, A. R. (1983). Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, v. 11, p. 591–592.

Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, New York, v. 148, p. 350–382.

Mattos, L. M.; Moretti, C. L.; Muniz, L. B.; Silva, E. Y. Y. da. (2009). Protocolo de análise para determinação da atividade antioxidante total em hortaliças no sistema beta-caroteno/ácido linoléico. *Embrapa Hortaliças-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)*, p.5.

Martins, A. P. P.; Reissmann, C. B. (2007). Material vegetal e as rotinas laboratoriais nos procedimentos químico-analítico. *Scientia Agrária*, v. 8, n. 1, p. 1–17.

Magulska-Ulewicz, B.; Wesolowski, M. (2023). Antioxidant activity of medicinal herbs and spices from plants of the Lamiaceae, Apiaceae and Asteraceae Families: Chemometric Interpretation of the Data. *Annual Achievements Report Available Now*. v. 12, n. 12, p. 2039. doi.org/10.3390/antiox12122039

Maldonade, I. R.; Carvalho, P. G. B. de; Ferreira, N. A. (2013). Protocolo para determinação de açúcares totais em hortaliças pelo método de DNS. *Comunicado técnico 85*, Embrapa, p. 4. ISSN: 1414-9850.

Mohamed, Y. F. Y. (2020). Impacto de alguns estimulantes de crescimento em cooperação com fungos micorrízicos no crescimento, produtividade e constituintes químicos da planta de funcho holandês. *Revista Científica de Flores e Plantas Ornamentais*. v. 7, p. 303–319. Doi: 10.21608/sjfop.2020.114567

Moraes, G. V.; Jorge, G. M.; Gonzaga, R. V.; Santos, D. A. dos (2022). Potencial antioxidante dos flavonoides e aplicações terapêuticas. *Society and Development*, v. 11, n. 14, p. e36225142022. Doi: 10.33448/rsd-v11i14.36225

Nour, V.; Trandafir, I.; Cosmulescu, S. (2017). Bioactive compounds, antioxidant activity and nutritional quality of different culinary aromatic herbs. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, v. 45, p. 179–184. Doi: 10.15835/nbha45110678

Nunes, R. L. S. Inoculação e coinoculação de microrganismos via semente e sulco de semeadura na soja em terras baixas. 2023. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2023. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/handle/1/30991>

Olennikov, D. N. (2022). Coumarins of lovage roots (*Levisticum officinale* W.D.J. Koch): LC-MS profile, quantification, and stability during postharvest storage. *Metabolites*. v. 13, n. 1, p. 3. Doi: 10.3390/metabo13010003

Oliveira, I. R. (2021). Avaliação de bioporos em diferentes manejos em solo subtropical. Universidade Federal da Fronteira Sul. Disponível em: <<https://rd.uffs.edu.br/bitstream/prefix/D4630/1/OLIVEIRA.pdf>>. Acesso em: 14 abr. 2025.

Pagnussat, L. A.; Nascimento, M. D.; Maroniche G.; Gonorazky G.; Rizza L.S.; Creus C.; Curatti, L. (2023). *Azospitillum baldaniorum* improves acclimation, lipid productivity and oxidative response of a microalga under salt stress. *Algal Research*. v. 74, p. 103192. Doi: 10.1016/j.algal.2023.103192

Palungwachira, P.; Tancharoen, S.; Phruksaniyom, C.; Klungsaeng, S.; Srichan, R.; Kikuchi, K.; Nararatwanchai, T. (2019). Antioxidant and anti-Inflammatory properties of anthocyanins extracted from *Oryza sativa* L. in primary dermal fibroblasts. *Oxidative medicine and cellular longevity*, v. 2019, n. 1, p. 2089817. <https://doi.org/10.1155/2019/2089817>

Papuc, C.; Predescu, N. C.; Goran, G.; Petrescu, C. (2020). Total phenolic content and antioxidant activity of some aromatic herbs used in traditional Romanian cuisine, *Annals of the Academy of Romanian Scientists Series on Agriculture, Silviculture and Veterinary Medicine Sciences*, v. 9, n. 1, p. 17–24.

Parvin, K.; Nahar, K.; Mohsin, S. M.; Al Mahumud, J.; Fujita, M.; Hasanuzzaman, M. (2022). Plant phenolic compounds for abiotic stress tolerance. *Managing plant production under changing environment*, p. 193–237. Doi:10.1007/978-981-16-5059-8_8

Peng H.; de-Bashan, L. E.; Higgins, B. T. (2021). *Azospirillum brasilense* reduces oxidative stress in the green microalgas *Chlorella sorokiniana* under different stressors. *Journal of Biotechnology*, v. 325, p. 179–185. Doi: 10.1016/j.jbiotec.2020.10.029

Pinheiro, V. J. F.; Cardoso, D. F. S. R.; Silva, E. R. M.; Barbosa, I. C. C. (2020). Fertilidade do solo de um horto às margens do rio Inhangapi e os impactos qualitativos sob o corpo hídrico. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, v. 15, n. 3, p. 256–264. <https://doi.org/10.18378/rvads.v15i3.7710>

Podsędek, A. (2007). Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT-Food science and Technology*, v. 40, n. 1, p. 1–11. Doi: 10.1016/j.lwt.2005.07.023

Punoševac, M.; Selgrad, J. R.; Leković, A.; Kundaković, T. (2021). Uma revisão das características botânicas, composição química, atividade farmacológica e uso da salsa. *Arquivo de farmácia*. v. 71, n. 3, p. 177–196. Doi: 10.5937/arhfarm71-30800

Puri, A.; Padda, K. P.; Chanway, C. P. (2020). In vitro and in vivo analyses of plant growth-promoting potential of bacteria naturally associated with spruce trees growing on nutrient-poor soils. *Applied Soil Ecology*. v. 149, p. 103538. Doi:10.1016/j.apsoil.2020.103538

Phillips, J. M.; Hayman, D. S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, v. 55, p. 158–161. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(70\)80110-3](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3)

Plawgo, M.; Kocira, S.; Bohata, A. (2024). Multi-objective optimization of the green extraction conditions of bio-active compounds from a *Levisticum officinale* WDJ Koch: pareto optimality and compromise solutions for process management. *Agricultural Engineering*. v. 28, n. 1, p. 137–165, Doi: 10.2478/agriceng-2024-0010

Rezende, C. C.; Silva, M. A.; Frasca, L. L. de M.; Faria, D. R.; Filippi, M. C. C. de; Lanna, A. C.; Nascente, A. S. (2021) Microrganismos multifuncionais: utilização na agricultura. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 2, e50810212725. Doi: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i2.12725>

Ribeiro, N. A. A. (2024). Bioindicadores do solo e sua correlação com a produtividade vegetal em função do residual da adubação fosfatada e da inoculação com *Azospirillum brasilense*. 94 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista - Unesp, Ilha Solteira.

Rufino, M. do S. M.; Alves, R. E.; Brito, E. S.; de Moraes, S. M. de; Sampaio, C. de G.; Pérez-Jiménez, J.; Saura-Calixto, F. D. (2006). Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado técnico, 125, p. 4.

Sahlabgi, A.; Lupuliasa, D.; Stoicescu, I.; Vlaia, L. L.; Licu, M.; Popescu, A.; Scafa-Udriste, A.; Ene, R.; Hincu, L.; Lupu, C. E.; Mititelu, M. (2025). Determination of the phytochemical profile and antioxidant activity of some alcoholic extracts of *Levisticum officinale* with pharmaceutical and cosmetic applications. Separations, v. 12, n 4, e79. Doi: <https://doi.org/10.3390/separations12040079>

Santos, L. H. A.; Ferreira, V. F.; de Souza, M. C. B. V. (2013). Phthalimide: a privileged structure in drug discovery. Current Organic Synthesis, v. 10, n. 2, p. 234–262. <https://doi.org/10.2174/1570179311310020011>

Santos, A. A.; Deoti, J. R.; Müller, G.; Dário, M. G.; Stambuk, B. U.; Junior, S. L. (2017). Dosagem de açúcares redutores com o reativo DNS em microplaca. Brazilian Journal of Food Technology, v. 20. e2015113. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.11315>

Santos, M. S.; Nogueira, M. A.; Hungria, M. (2021). Outstanding impact of *Azospirillum brasilense* strains Ab-V5 and Ab-V6 on the Brazilian agriculture: Lessons that farmers are receptive to adopt new microbial inoculants. Revista Brasileira de Ciência do Solo. v. 45, e0200128. Doi: 10.36783/18069657rbc20200128

Sargazi, M. L.; Karam, Z. M.; Shahraki, A.; Raeiszadeh, M.; Khabaz, M. J. R.; Yari, A. (2024). Anti-inflammatory and apoptotic effects of *Levisticum officinale* extracts on HT29 and Caco-2 human colorectal carcinoma cell lines. Galen Medical Journal, v. 13. e3341. <https://doi.org/10.31661/gmj.v13i.3341>

Silva, E. E.; Azevedo, P. H. S.; De-Polli, H. (2007). Determinação do carbono da biomassa microbiana do solo (BMS-C). Seropédica: Embrapa Agrobiologia, Comunicado Técnico, 98.

Silva, E. E.; Azevedo, P. H. S.; De-Polli, H. (2007). Determinação da respiração basal (RBS) e quociente metabólico do solo (qCO₂). Embrapa Agrobiologia, Comunicado Técnico 99.

Silva, C. F. (2009) In: Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes, 2 Eds., Brasília DF: Embrapa.

Silva, J.; Pereira, M. (2020). Composição química e propriedades biológicas de *Levisticum officinale*. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v. 25, n. 2, p. 100–108.

Singh, B. K.; Liu, H.; Trivedi, P. (2020). Eco-holobiont: a new concept to identify drivers of host-associated microorganisms. Environmental Microbiology, v. 22, n. 2, p. 564–567.

Sokhangoy, S. H.; Ansari, K.; Asli, D. E. (2012). Effect of bio-fertilizers on performance of Dill (*Anethum graveolens* L.) Journal of Plant Physiology, v. 2, n. 4, p. 547–552.

Souza, B. C.; Cruz, R. M. S.; Lourenço, E. L. B.; Pince, M. M.; Almagro, M.; Silva, C.; Nunes, M. G. I. F.; Souza, S. G. H.; Alberton, O. (2022). Inoculation of lemongrass with arbuscular

mycorrhizal fungi and rhizobacteria alters plant growth and essential oil production. *Rhizosphere*. v. 22. 100514. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2022.100514>

Sun, W.; Shahrajabian, M. H.; Wang, N. (2025). A study of the different strains of the genus *Azospirillum* spp. on increasing productivity and stress resilience in plants. *Plants*, v. 14, n. 2, p. 267. <https://doi.org/10.3390/plants14020267>

Scalbert, A.; Manach, C.; Morand, C.; Remsey, C. (2005). Dietary polyphenols and prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 45, p. 287–306.

Shen, M.; Li, J.; Dong, Y.; Liu, Hong; Peng, J.; Hu, Y.; Sun, Y. (2021). Profiling of plant growth-promoting metabolites by phosphate solubilizing bacteria in maize rhizosphere. *Plants*, v. 10, n. 6, p. 1071. <https://doi.org/10.3390/plants10061071>

Shirokov, A. A.; Budanova, A. A.; Burov, A.M.; Khlebtsov, B. N.; Krasov, A. I.; Shchyogolev, S. Y.; Matora, L. Y. (2017). Immunoelectron microscopy investigation of the cell surface of *Azospirillum brasilense* strains. *Microbiol.* v. 86, p. 487–492. <https://doi.org/10.1134/S0026261717040142>

Smith, S. E.; Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal symbiosis*. 3 ed. London: Academic Press. p. 815. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370526-6.X5001-6.S>

Spréa, R. M.; Fernandes, Â.; Calhelha, R. C.; Pereira, C.; Pires, T. C. S. P.; Alves, M. J., et al. (2020a). Chemical and bioactive characterization of the aromatic plant *Levisticum officinale* W.D.J. Koch: a comprehensive study. *Food & Function*. v. 11, p. 1292–1303. Doi: 10.1039/c9fo02841b

Spréa, R.M.; Fernandes, Â.; Finmundy, T. C.; Pereira, C.; Alves, M.J.; Calhelha, R.C.; Canan, C.; Barros, L.; Amaral, J.S.; Ferreira, I. C. F. R. (2020b). Lovage (*Levisticum officinale* W.D.J. Koch) Roots: A source of bioactive compounds towards a circular economy. *Sustainable Use of Natural Resources: The Need for a Circular Economy Model in Food Industry*. v. 9, n. 7, p. 81. <https://doi.org/10.3390/resources9070081>

StatSoft (2017). *Electronic statistics textbook*, Tulsa, OK: StatSoft. Available from: <http://www.statsoft.com/textbook/>.

Steyn, W. J.; Wand, S. J. E.; Holcroft, D. M.; Jacobs, G. (2002). Anthocyanins in vegetative tissues: a proposed unified function in photoprotection. *New Phytologist*, v. 155, n. 3, p. 349–361. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2002.00482.x>

Sparling, G. P.; West, A. W. (1988). A direct extraction method to estimate soil microbial C: calibration in situ using microbial respiration and ¹⁴C-labelled cells. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 20, n. 4, p. 337–343.

Szparaga, A.; Kocira, A.; Findura, P.; Kapusta, I.; Zagula, G.; Świeca, M. (2021). Discovering the multilevel response of *Glycine max* L. to the application of allelopathic biostimulant of *Levisticum officinale* Koch. *Scientific Reports*. v. 11, n. 15360. Doi: //doi.org/10.1038/s41598-021-94774-5

Szparaga, A.; Kocira, S.; Kapusta, I.; Zaguła, G. (2023). Exploring the agro-potencial of extract from *Levisticum officinale* WDJ Koch in soybean cultivation. *Industrial Crops and Products*, v. 203, n. 1, p. 117235. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.117235>

Tajner-Czopek, A.; Gertchen, M.; Rytel, E.; Kita, A.; Kucharska, A.Z.; Sokol-Letowska, A., (2020) Study of antioxidant activity of some medicinal plants having high content of caffeic acid derivatives, *Antioxidants*, v. 9, n. 5, p. 412. <https://doi.org/10.3390/antiox9050412>

Tate, K. R.; Ross, D. J.; Feltham, C. W. (1988). A direct extraction method to estimate soil microbial-C: Effects of experimental variables and some different calibration procedures. *Soil Biology & Biochemistry*, v. 20, p. 329–335. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(88\)90013-2](https://doi.org/10.1016/0038-0717(88)90013-2)

Tuncturk, M.; Özgökce, F. (2015). Chemical composition of some Apiaceae plants commonly used in herby cheese in Eastern Anatolia. *Journal of Agriculture and Forestry*, v. 39, p. 55–62. <https://doi.org/10.3906/tar-1406-153>

Thoma, F.; Somborn-Schulz, A.; Schlehuber, D.; Keuter, V., and Deerberg, G. (2020). Effects of light on secondary metabolites in selected leafy greens: a review. *Frontiers in Plant Science*, v. 11, p. 497. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00497>

Tvrda, E.; Varga, A.; Slavik, M.; Arvay, J. (2019). *Levistikum officinale* and its effects on bovine spermatozoa activity. *Journal of Microbiology Biotechnology and Food Science*. v. 8, p. 1212–1216. doi: 10.15414/jmbfs.2019.8.5.1212-1216

Vance, E. D.; Brookes, P. C.; Jenkinson, D. S. (1987). An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology & Biochemistry*. v. 19: p. 703–707. Doi: [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(87\)90052-6](https://doi.org/10.1016/0038-0717(87)90052-6)

Ventura, B. S.; Meyer, E.; Souza, M.; Vieira, A. S.; Scarsanella, J. A.; Comin, J. J.; Lovato, P. E. (2021). Soil phosphorus availability and uptake by mycorrhizal and non-mycorrhizal plants in an onion no-tillage system. *Ciência Rural*, v. 51, n. 10, p. 1–16.

Wang, X.J.; Luo, Q.; Li, T.; Meng, P. H. M.; Pu, Y. T.; Liu, J. X.; Zhang, J.; Liu, H.; Tan, G. F.; Xiong, A. S. (2022). Origin, evolution, breeding, and omics of Apiaceae: a family of vegetables and medicinal plants. *Research Horticulture*. v. 9, p. 76. <https://doi.org/10.1093/hr/uhac076>

Wang, J.; Cao, X.; Cui, X.; Wang, J.; Li, Y.; Chen, B. (2023). Arbuscular mycorrhizal fungi regulate flavonoid accumulation and antioxidant activity in citrus by modulating sugar metabolism and transport. *Mycorrhiza*, v. 33, n. 1, p. 41–55. <https://doi.org/10.1007/s00572-022-01097-4>

Wani, K. M.; Uppaluri, R. V. (2022). Pulsed ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from papaya pulp and papaya pedal using response surface methodology: Optimization and comparison with hot water extraction. *Applied Food Research*, ed. 2, v.2, 100178.

Waterhouse, A. L. (2002). Polyphenolics: Determination of total phenolics. In: Wrolstad, R. E. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. New York: John Wiley & Sons, cap. 1.1, p. 111–118.

Yang, L.; Zou, Y. N.; Tian, Z. H.; Wu, Q. S.; Kuča, K. (2021). Effects of beneficial endophytic fungal inoculants on plant growth and nutrient absorption of trifoliolate orange seedlings. *Scientia Horticulturae*, v. 277, 109815. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109815>

Xu, Q.; Pan W.; Zhang, R.; Lu, Q.; Xue, W.; Wu, C.; Song, B.; Du, S. (2018). Inoculation with *Bacillus subtilis* and *Azospirillum brasilense* produces abscisic acid that reduces Irt1-mediated cadmium uptake of roots. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 66, p. 5229–5236. Doi: 10.1021/acs.jafc.8b00598

Złotek, U.; Lewicki, S.; Markiewicz, A.; Szymanowska, U.; Jakubczyk, A. (2021). Effects of drying methods on antioxidant, anti-inflammatory and anticancer potentials of phenolic acids in lovage obtained by jasmonic acid and yeast extract. *Antioxidants*. v. 5, n. 10, p. 662–662. Doi: 10.3390/antiox10050662

Zhang, S.; Zhang, L.; Zou, H.; Qiu, L.; Zheng, Y. (2021). Effects of light on secondary metabolite biosynthesis in medicinal plants. *Frontiers in Plant Science*, v. 12, p.781236 Doi: 10.3389/fpls.2021.781236

Zubek, S.; Blaszkowski, J.; Seidler-Lozykowska, K.; Baba, W.; Mleczko, P. (2013). Arbuscular mycorrhizal fungi abundance, species richness and composition under the monocultures of five medicinal plants. *Acta Scientiarum Polonorum. Hortorum Cultus*. v. 12, n. 5, p. 127–141.