

**Fungos micorrízicos arbusculares na tolerância a seca: resposta no metabolismo antioxidante de *Ocimum basilicum* L.**

**Arbuscular mycorrhizal fungi in drought tolerance: response in the antioxidant metabolism of *Ocimum basilicum* L.**

**Hongos micorrízicos arbusculares en tolerancia a la sequía: respuesta en el metabolismo antioxidante de *Ocimum basilicum* L.**

Recebido: 08/12/2020 | Revisado: 16/12/2020 | Aceito: 20/12/2020 | Publicado: 26/12/2020

**Cristine Bonacina**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4359-5617>

Universidade Paranaense, Brasil

E-mail: [cristinebonacina@hotmail.com](mailto:cristinebonacina@hotmail.com)

**Rayane Monique Sete da Cruz**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5644-7061>

Universidade Estadual de Maringá, Brasil

E-mail: [rayanesete@hotmail.com](mailto:rayanesete@hotmail.com)

**Izabeli Cardoso Zaina**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5428-434X>

Centro Universitário FAG, Brasil

E-mail: [izabelizaina1@gmail.com](mailto:izabelizaina1@gmail.com)

**Odair Alberton**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4819-6669>

Universidade Paranaense, Brasil

E-mail: [odair@prof.unipar.br](mailto:odair@prof.unipar.br)

**Silvia Graciele Hülse de Souza**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1994-6229>

Universidade Paranaense, Brasil

E-mail: [silviahulse@prof.unipar.br](mailto:silviahulse@prof.unipar.br)

**Resumo**

O manjeriço apresenta grande importância devido ao alto teor de substâncias bioativas presentes nas folhas, amplamente utilizada na medicina tradicional e na indústria farmacêutica. No entanto, como na maioria das plantas, mudanças fisiológicas e bioquímicas ocorrem em

plantas de manjerição submetidas à seca. A fim de minimizar essas mudanças fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) tem sido utilizado. Este estudo teve como objetivo avaliar o crescimento e a resposta antioxidante de plantas de manjerição sob déficit hídrico e inoculados com *Clarideoglomus etunicatum*. O estudo foi feito em câmera de crescimento em plantas de manjerição inoculadas com FMAs e submetidas à seca após 30 dias após o transplante. Mudas inoculadas com FMA mostraram uma taxa de colonização de 28,66 e 32,79%. Plantas sem a inoculação e submetidas à seca apresentaram redução significativa no di metro do caule, comprimento da parte aérea e raiz e no acúmulo de biomassa da parte aérea e sistema radicular. Com a inoculação, houve uma melhora na resposta fisiológica das plantas sob estresse hídrico, referente a concentração de clorofila e o teor relativo de  gua. Grandes quantidades de prolina se acumularam nas folhas inoculadas e sob estresse, o que mostra o papel benéfico desse osmolitos em manjerição submetido à seca. As enzimas antioxidantes CAT e APX apresentaram maior atividade nas plantas expostas à seca e inoculadas com FMAs, o que reduziu o dano da membrana plasmática. A inoculação com FMAs em manjerição regulou positivamente a síntese de osmolitos e o metabolismo antioxidante promovendo tolerância à seca.

**Palavras-chave:** Plantas medicinais; Mudanças no metabolismo; Antioxidantes.

### **Abstract**

Basil shows great importance due to the high content of bioactive substances present in the leaves, widely used in traditional medicine and the pharmaceutical industry. However, as in most plants, physiological and biochemical changes occur in drought-prone basil plants. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMFs) have been used to minimize these changes. This study aimed to evaluate the growth and antioxidant response of basil plants under water deficit and inoculated with AMFs *Clarideoglomus etunicatum*. The study was carried out in a growth chamber on basil plants inoculated with AMFs and subjected to drought after 30 days after transplantation. Seedlings inoculated with AMF showed a colonization rate of 28.66 and 32.79%. Plants without AMFs inoculation and subjected to drought showed a significant reduction in stem diameter, shoot and root length, and shoot and root biomass accumulation. However, inoculation showed improved plant physiological response under water stress, increasing chlorophyll, and relative water content. Large amounts of proline have accumulated in the leaves of inoculated AMFs plants and under stress, which shows the beneficial role of these osmolites in basil subjected to drought. The antioxidant enzymes CAT and APX showed high activity in plants exposed to drought and inoculated with AMFs, which reduced the plasma

membrane's damage. AMFs in basil regulated the synthesis of osmolites and antioxidant metabolism positively, promoting drought tolerance.

**Keywords:** Medicinal plants; Metabolic changes; Antioxidants.

## Resumen

La albahaca tiene una gran importancia debido al alto contenido de sustancias bioactivas utilizadas en la medicina tradicional y en la industria farmacéutica. Sin embargo, se producen cambios fisiológicos y bioquímicos en las plantas sometidas a la sequía. Para minimizar estos cambios se han utilizado hongos micorrízicos arbusculares (HMA). Este estudio tuvo como objetivo evaluar el crecimiento y la respuesta antioxidante de plantas de albahaca en situación de déficit hídrico e inoculadas con *Clarideoglossum etunicatum*. El estudio se realizó en una cámara de crecimiento sobre plantas de albahaca inoculadas con HMA y sometidas a sequía a los 30 días del trasplante. Las plántulas inoculadas con HMA mostraron una tasa de colonización de 28,66 y 32,79%. Las plantas sin inoculación y sometidas a sequía mostraron una reducción significativa en el diámetro del tallo, longitud de la parte aérea y raíz y en la acumulación de biomasa de la parte aérea y sistema radicular. Con la inoculación se mejoró la respuesta fisiológica de las plantas bajo estrés hídrico, relacionada con la concentración de clorofila y el contenido relativo de agua. Grandes cantidades de prolina acumulados en las hojas inoculadas y bajo estrés, lo que demuestra el papel beneficioso de estos osmolitos en albahaca presentados a la sequía. Las enzimas antioxidantes CAT y APX mostraron mayor actividad en plantas expuestas a la sequía e inoculadas con HMA, lo que redujo el daño de la membrana plasmática. La inoculación con FMA en albahaca reguló positivamente la síntesis de osmolitos y el metabolismo antioxidante, promoviendo la tolerancia a la sequía.

**Palabras clave:** Plantas medicinales; Cambios en el metabolismo; Antioxidantes.

## 1. Introdução

O *Ocimum basilicum* L. é uma planta aromática anual, pertencente à família Lamiaceae, popularmente conhecida como manjeriço (Barcelos et al., 2013). Tradicionalmente utilizada como uma planta medicinal, *O. basilicum* possui grande potencial na produção de óleo essencial (OE), devido aos compostos aromáticos como o linalool, o 1,8-cineole, o estragol e o eugenol, além de conter flavonóides, alcaloides, saponinas, taninos e outros (Poonkodi, 2016; Umoh et al., 2020). No âmbito medicinal, seu emprego se dá por meio de suas partes vegetais como suas folhas, raízes e o OE, devido às suas propriedades antibacterianas, antifúngicas, tônica,

vermífuga e antioxidante, no qual é utilizada para a problemas gástricos, bronquite, tosse, otite e outras afecções que acometem o ser humano (Shirazi et al., 2014; Kavooosi et al., 2017; Rubab et al., 2017).

Dentre os estresses abióticos, o estresse hídrico, condição adversa essa que pode ser ocasionada, por exemplo, em função da baixa ocorrência das chuvas pode afetar a produção vegetal, o rendimento e a composição do OE das plantas medicinais (Novello et al., 2020). Assim, condições de seca impedem o crescimento das raízes, o que resulta na redução da absorção de água e nutrientes pelas plantas (Mancosu et al., 2015; Ali et al., 2017). Ademais, o déficit hídrico pode causar ainda um conflito entre a conservação da água pela planta e a taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> para produção de carboidratos (Taiz & Zeiger, 2017). Estes fatores fazem com que se tenha um baixo ajuste osmótico, causando o fechamento estomático, redução da condutância estomática, redução da fotossíntese e da transpiração, o que conseqüentemente leva ao declínio da taxa de crescimento e desenvolvimento vegetal (Silva et al., 2002; Gomes et al., 2004; Portes et al., 2006; Chai et al., 2015).

O estresse hídrico pode causar uma série de reações fisiológicas e moleculares nas plantas. Assim, a seca pode causar desequilíbrios nas espécies reativas de oxigênio (EROS), além de perturbar a peroxidação lipídica da membrana celular e danificar as membranas celulares e organelas. O excesso de EROS possui efeito tóxico nas plantas devido ao aumento do radical aniônico superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), oxigênio singleto (O<sub>2</sub>), radical hidroxila (OH<sup>•</sup>) e de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Miller et al., 2010). Entretanto, as plantas possuem respostas protetoras para manter a estabilidade metabólica e assim sobreviver sob estresse ambiental (Hamurcu et al., 2020; Neto et al., 2020; Vanani et al., 2020). Seu sistema antioxidante é capaz de produzir uma variedade de enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) que são ativadas para tentar minimizar e/ou inibir os danos ocorridos durante este processo (Carneiro et al., 2011; El-Esawi et al., 2017).

Microrganismos benéficos no solo, como os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), representam uma das formas promissoras e sustentáveis de melhorar a umidade e as propriedades do solo, além de aumentar o crescimento e a tolerância das plantas à seca (Zhang et al., 2019). Os FMAs estimulam o crescimento vegetal reduzindo os danos causados pelo estresse hídrico melhorando a sobrevivência da planta, uma vez que há um aumento da absorção de água, proporcionado pelas hifas fúngicas, que funcionam como extensão do sistema radicular (Latef et al., 2016; Salam et al., 2017). Desta maneira, o fungo é então beneficiado pelos fotoassimilados das plantas, que permitem o completo ciclo de vida dos FMAs, o qual ocorre em associação com a planta hospedeira (Smith & Read, 2008).

Os efeitos benéficos dos FMAs têm sido demonstrados em diferentes condições e espécies vegetais, podendo melhorar o desempenho da planta, mudar a relação planta-água e assim aumentar a produtividade da planta sob estresse hídrico (Ait-El-Mokhtar et al., 2020; Golubkina et al., 2020; González-González et al., 2020). Estudos recentes propuseram diferentes mecanismos através dos quais os FMAs reduzem os efeitos adversos dos estresses abióticos. Dentre esses mecanismos, está o aumento da eficiência do uso de água, melhora da condutância estomática e o aumento da atividade das enzimas antioxidantes para reduzir o dano peroxidativo (Duc et al., 2018; Li et al., 2019).

Apesar de diversos trabalhos avaliarem a efetividade dos FMAs frente aos estresses abióticos em plantas medicinais, poucos estudos em manjeriço sob estresse hídrico foram conduzidos (Mahdavikia et al., 2019; Mota et al., 2020). Desta forma, este estudo teve como objetivo investigar como a inoculação com o FMA *Claroideoglomus etunicatum* afetou o crescimento, a resposta antioxidante e a capacidade de ajuste osmótico de mudas de *O. basilicum* submetidas à seca. Compreender a tolerância à seca e os efeitos dos FMAs em mudas de *O. basilicum* são importantes para implementar estratégias eficazes para mitigar o impacto negativo do estresse hídrico no crescimento e produção do manjeriço.

## 2. Metodologia

### 2.1 Material vegetal

Estacas de 20 cm de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) foram transplantadas em vasos plásticos de policloreto de vinila (PVC) com capacidade de 1 litro, contendo uma mistura de solo:vermiculita:areia (2:1:1v) autoclavada a 120 °C, duas vezes, em intervalo de 24hrs. Nos tratamentos que foram utilizados os FMAs, foram inoculados 200 esporos do isolado *Claroideoglomus etunicatum* provenientes do banco de Glomales da UNIPAR.

As plantas foram mantidas em câmara de crescimento 25±2 °C com intensidade luminosa de aproximadamente 200 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>, umidade relativa 60±5% e fotoperíodo 16 horas de claro/8 horas de escuro, durante um período de trinta dias. As plantas foram irrigadas duas vezes por semana com solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950).

Após 30 dias, deu-se início ao estresse hídrico, onde um grupo foi submetido a deficiência hídrica, mediante suspensão da irrigação por um período de 10 dias, e um grupo foi diariamente irrigado (controle). Foram utilizados um total de 12 vasos para cada tratamento.

## **2.2 Análises químicas e microbiológicas do solo**

### **2.2.1 Determinação do pH do solo em CaCl<sub>2</sub>**

A determinação do pH em cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) foi realizada seguindo a metodologia de Silva (2009). As amostras de solo foram lidas com o auxílio de um pH em um potenciômetro padronizado.

### **2.2.2 Densidade de esporos do solo**

Os esporos foram extraídos de sub-amostras de 10 g de solo seguindo a metodologia de peneiramento úmido em malha de 0,710 mm e 0,053 mm (Gerdemann & Nicolson, 1963). Para a contagem e identificação as amostras foram transferidas em placas de Petri e contados sob microscópio estereoscópio (40X).

### **2.2.3 Colonização radicular em raízes**

As raízes do manjeriço foram clareadas em hidróxido de potássio (KOH) 10% (90 °C por 1 hora), lavadas e em seguida acidificadas com ácido clorídrico (HCl) 5% (90 °C por 30 min.). Em seguida levou-se as raízes para lavar em água corrente, foi adicionado azul de tripano 0,05% e logo após submetidas em banho-maria (90 °C por 30 min.). As raízes coradas foram preservadas em solução de lactoglicerol, até o das lâminas serem montadas para posterior análise.

A verificação de segmentos colonizados foi observada em 3 raízes colocadas em lâminas de vidro, sobrepostas por lamínulas de vidro e contados 100 segmentos sob microscópio estereoscópico (40-100x) para identificação do local colonizado (Giovanetti & Mosse, 1980).

A colonização radicular total por FMAs foi obtida com a seguinte equação, para a obtenção dos resultados.

$$\text{Col.}_t = \left( \text{ArcSen} \sqrt{\text{Col.}(\%)/100} \right) \cdot (180/\pi)$$

Onde Col.<sub>t</sub> é a colonização total; ArcSen é o inverso de Sen; (%) é a porcentagem; Pi (π) = 3,14.

#### 2.2.4 Determinação da respiração basal e quociente metabólico do solo

A respiração basal do solo (RBS) coletado foi determinada segundo metodologia descrita por Jenkinson e Powlson (1976). Sua determinação foi calculada com a seguinte equação:

$$\text{RBS (mg de C - CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ solo h}^{-1}) = ((v_b - v_a) \cdot M \cdot 6.1000) / \text{Ps} / \text{T}$$

Em que o RBS é a determinação do carbono obtido por meio da respiração basal do solo;  $v_b$  (mL) é o volume de ácido clorídrico gasto na solução controle (branco);  $v_a$  (mL) é o volume gasto na titulação da amostra;  $M$  é a molaridade do HCl;  $\text{Ps}$  (g) é massa de solo seco; e  $T$  é o tempo de incubação da amostra em horas.

O quociente metabólico do solo ( $q\text{CO}_2$ ) foi realizado pela razão entre a respiração basal do solo por unidade de carbono da biomassa microbiana do solo (Silva, 2009) calculado por meio da seguinte fórmula:

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

Onde  $q\text{CO}_2$  corresponde ao quociente metabólico do solo; RBS corresponde a respiração basal do solo; CBM corresponde ao carbono da biomassa microbiana do solo.

#### 2.2.5 Determinação do carbono da biomassa microbiana do solo

O teor de carbono da biomassa microbiana do solo (CBM) foi realizado pela metodologia de fumigação-extração, proposto por Vance et al. (1987) e Tate et al. (1988). A evaporação do clorofórmio dos frascos com as amostras foi realizada conforme proposto por Brookes et al. (1982) e Witt et al. (2000). O cálculo do CBM nos extratos foi determinado com a seguinte equação:

$$\text{C (mg C kg}^{-1}\text{ solo)} = \frac{(V_b - V_a) \cdot M \cdot 0,003 \cdot V_1 \cdot 10^6}{\text{Ps} \cdot V_2}$$

Em que o C corresponde ao carbono extraído do solo; V<sub>b</sub> (mL) corresponde ao volume do sulfato ferroso amoniacal gasto na titulação da solução controle (branco); V<sub>a</sub> (mL) corresponde ao volume de sulfato ferroso amoniacal gasto na titulação da amostra; M corresponde a molaridade do sulfato ferroso amoniacal. V<sub>1</sub> corresponde ao volume do extrator sulfato de potássio utilizado; V<sub>2</sub> corresponde a alíquota pipetada do extrato para titulação; 0,0033 corresponde ao miliequivalente do carbono; P<sub>s</sub> (g) corresponde a massa do solo seco. K<sub>c</sub> = 0,4 corresponde ao fator de correção adotado por Kaschuk et al. (2010).

## **2.3 Avaliações Agronômicas e Fisiológicas**

### **2.3.1 Análise de crescimento e clorofila**

O comprimento da parte aérea (CPA) e da raiz (CRA) foi medido utilizando uma fita métrica. A massa fresca da parte aérea (MFPA) e da raiz (MFRA) foram pesados em balança analítica. O diâmetro do caule ( $\emptyset$  caule) foi medido com um paquímetro digital (Digimess®). A clorofila foi mensurada utilizando o clorofilômetro CFL 1030 (Falker).

### **2.3.2 Teor relativo de água**

O teor relativo de água (TRA%) foi determinado utilizando a metodologia proposta por Rouached et al. (2013), com a seguinte equação (Schonfeld et al., 1988):

$$\text{TRA}\% = 100 \times (\text{MF} - \text{MS}) / (\text{MT} - \text{MS})$$

Onde o TRA% corresponde ao teor relativo de água das folhas; MF corresponde à massa fresca das folhas; MS corresponde à massa seca das folhas; e o MT corresponde à massa túrgida das folhas

### **2.3.3 Dano da membrana plasmática**

O dano da membrana plasmática (DM%) foi realizado utilizando a metodologia proposta por Silveira et al. (2001), em que o percentual de danos provocados na membrana plasmática (DM %) das folhas foi calculado com a seguinte equação:



$$DM \% = (L1/L2) \times 100$$

Onde o DM % corresponde ao dano da membrana plasmática; L1 corresponde a condutividade elétrica inicial do extrato; e L2 corresponde a condutividade elétrica final.

## **2.4 Análises Bioquímicas**

### **2.4.1 Atividade enzimática**

Para a determinação das enzimas antioxidantes, folhas frescas do manjericão (0,2 g) foram pulverizadas com nitrogênio líquido e homogeneizadas em solução com tampão fosfato de potássio 400mM (pH 7,8); EDTA 10mM; ácido ascórbico 200mM e 10% de polivinilpolipirrolidona (PVPP) utilizando almofariz e pistilo, para não degradar as enzimas. O homogeneizado foi centrifugado em uma centrífuga automática a 12.000 g por 15 min a 4 °C. Em seguida, o sobrenadante recolhido foi armazenado em freezer (-20 °C) até o momento das leituras. O extrato obtido foi utilizado para os ensaios das enzimas antioxidantes: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX). Todos os ensaios foram realizados com três repetições biológicas em triplicata para cada tratamento.

#### **2.4.1.1 SOD (EC 1.15.1.1)**

A determinação da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi realizada conforme descrito por Giannopolitis e Ries (1977), onde medido a sua capacidade de inibir a fotoredução do nitrobluetetrazolium (NBT). A leitura das amostras foi realizada a 560 nm em um espectrofotômetro Elisa Spectra Max Plus 384 (Molecular Devices®, San Jose, USA), no qual uma unidade (U) de atividade de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir 50% da redução do NBT. A atividade da SOD foi expressa por meio de U SOD g<sup>-1</sup> MF min<sup>-1</sup>.

#### **2.4.1.2 CAT (EC 1.11.1.6)**

A determinação da atividade da enzima catalase (CAT) foi realizada utilizando a metodologia proposta por Havir e McHale (1987). Sua determinação foi realizada em espectrofotômetro Elisa Spectra Max Plus 384 (Molecular Devices®, San Jose, USA), em que

foi observada a degradação do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no intervalo de 1 minuto a 240 nm. A atividade da CAT foi expressa em  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ MF min}^{-1}$  (Anderson et al., 1995).

#### **2.4.1.3 APX (EC 1.11.1.11)**

A determinação da atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX) foi realizada seguindo a metodologia proposta por de Nakano e Asada (1981). Sua determinação se deu por meio da degradação do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no intervalo de 1 minuto a 290 nm. A atividade enzimática foi realizada em espectrofotômetro Elisa Spectra Max Plus 384 (Molecular Devices®, San Jose, USA) e expressa em  $\mu\text{mol de ácido ascórbico g}^{-1} \text{ MF min}^{-1}$ .

#### **2.4.2 Determinação de 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)**

O DPPH foi determinado utilizando a metodologia de Rufino et al. (2007), em que foi utilizado 250 mg de folhas frescas. Após, alíquotas de 0,1 mL dos extratos de cada amostra foram adicionadas a 3,9 mL da solução de DPPH em metanol (0,06 mM) e agitados em vórtex. Os tubos foram deixados em repouso ao abrigo da luz e após 30 minutos, a absorbância lida em espectrofotômetro Elisa Spectra Max Plus 384 (Molecular Devices®, San Jose, USA) em 515 nm, em três repetições biológicas em triplicata. A porcentagem de sequestro do radical livre DPPH (%SRL), foi calculado como:

$$\% \text{ SRL} = [(C-A) / C] \times 100$$

Onde C é a absorbância do controle e A é a absorbância das amostras.

#### **2.4.3 Determinação da Prolina**

Para a determinação da prolina foi realizada conforme metodologia de Bates et al. (1973). Foi montada uma curva padrão (0, 20, 40, 60, 80 e 100  $\mu\text{g/mL}$ ) contendo os seguintes reagentes: prolina, ácido sulfosalicílico, ácido niinhidrina e ácido acético glacial. Após, foi levada ao aquecimento por uma hora e em seguida lidas em espectrofotômetro 700 Plus da marca FEMTO® (São Paulo - Brasil), a uma absorbância de 520 nm. O resultado foi expresso em  $\mu\text{g Prolina/g de massa fresca}$ .

## 2.5 Análise estatística

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 2x2, fator 1 (com e sem fungo) e fator 2 (com e sem estresse hídrico). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Duncan ( $p \leq 0,05$ ), utilizando o programa estatístico SPSS 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). A análise de componentes principais (ACP) foi realizada para discriminar como cada um dos parâmetros avaliados foram influenciados pelos diferentes tratamentos. Os dados foram analisados pelo software Statistica v 13.3 (STATSOFT, 2017).

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1 Densidade de esporos e colonização de raízes de *O. basilicum* com FMAs submetidas à seca

O potencial de hidrogênio e pH foram avaliados no solo em que o manjeriço estava cultivado (Tabela 1). O pH do solo não diferiu estatisticamente entre os tratamentos, os valores de pH de aproximadamente 5,5 são considerados solos de média acidez e dentro dos valores preconizados por Sambatti et al. (2003). Quanto às análises microbiológicas do solo, observou-se que a densidade de esporos (%) de FMAs foi maior no tratamento com *C. etunicatum* juntamente com o estresse hídrico (0,81%) (T4). Essa alta densidade de esporos encontrada nesse tratamento pode ter ocorrido possivelmente em função da condição atípica em o fungo *C. etunicatum* se encontrava, estimulando-o a se reproduzir. O índice de colonização radicular (%) diferiu estatisticamente entre os tratamentos inoculados com FMAs (T3 e T4), no qual no tratamento com *C. etunicatum* e estresse hídrico (T4) a porcentagem de colonização foi de aproximadamente 14,41% maior do que a inoculação na ausência do estresse (T3).

Os resultados obtidos corresponderam ao esperado, uma vez que os FMAs aumentam a sua esporulação e a sua colonização sob condições de estresse, com o intuito de buscar água e nutrientes. O micélio extraradical dos FMAs capta água diretamente nas pontas das hifas da matriz do solo e, em seguida, transfere essa água através do citoplasma do fungo ou camadas da parede interna para a célula cortical da raiz, sem qualquer obstrução da membrana (Allen 2007). A água dentro das hifas não é perdida por causa do paredes hidrofóbicas. Desta forma, esse micélio micorrízico desempenha um papel importante na absorção e transferência de água para o vegetal sob condições adversas. Segundo Moreira e Siqueira (2006), a restrição de

disponibilidade hídrica induz nos microrganismos associados à planta a manifestação de mecanismos de adaptação, como a elevação da esporulação e da colonização, pelo fato de estar sob uma situação de estresse.

Foi observado diferenças significativas na respiração basal do solo (RBS) e no carbono da biomassa microbiana (CBM). O tratamento com a inoculação do FMA (T3) apresentou a maior média de RBS. Segundo Zangaro et al. (2012), a RBS é especificamente maior quando o ambiente apresenta atividade micorrízica, mesmo que este se encontre em condições de déficit hídrico. Quanto ao carbono da biomassa (CBM) nos tratamentos em que foi realizada a inoculação dos FMAs (T3 e T4) foi encontrada as maiores médias. O CBM é um indicador de qualidade do solo, importante para o processo de humificação. Nesse caso, os FMAs foram importantes para manter a qualidade desse solo, pois quanto maior é o valor do CBM, maior será a reserva de carbono no solo e menor a perda por decomposição da matéria orgânica.

Quanto ao  $qCO_2$ , o tratamento controle (T1) apresentou um aumento médio de 16,43% quando comparado aos demais tratamentos (Tabela 1). Alto valor de  $qCO_2$  pode tanto inferir estresse onde há uma maior oferta de substrato para respiração, ou, então, quando diante de um ecossistema imaturo (Pellegrino et al., 2011). Em contrapartida, os menores valores foram observados nos tratamentos T4 e T3. Os baixos valores de  $qCO_2$  rizosférico refletem um uso eficiente dos substratos orgânicos disponíveis por comunidades microbianas, o que tende a recuperar o solo de qualquer perturbação sofrida (Anderson 2003).

**Tabela 1.** Potencial de hidrogênio (pH (CaCl<sub>2</sub>)), densidade de esporos do fungo micorrízico arbuscular (FMA) (n<sup>o</sup> g<sup>-1</sup> de solo seco) (%), colonização radicular (%) por FMAs, respiração basal do solo (RBS), carbono da biomassa microbiana (CBM) e coeficiente metabólico (qCO<sub>2</sub>) do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) em resposta ao fungo micorrízico arbuscular *Claroideogomus etunicatum*, sob estresse hídrico.

Tratamento	pH (CaCl <sub>2</sub> )	Esporos (%)	Col (%)	RBS	CBM	qCO <sub>2</sub>
T1 <sup>1</sup>	5,50 ± 0,08 a <sup>2</sup>	0,08 ± 0,01c	2,00 ± 0,32c	0,95 ± 0,07b	110,86 ± 5,60b	8,80 ± 0,82a
T2	5,44 ± 0,07a	0,09 ± 0,00c	1,02 ± 0,20c	0,93 ± 0,05b	91,53 ± 8,68b	7,90 ± 0,35ab
T3	5,49 ± 0,06a	0,59 ± 0,06b	28,66 ± 2,69b	1,26 ± 0,08a	155,51 ± 10,41a	7,26 ± 0,35ab
T4	5,55 ± 0,06a	0,81 ± 0,06a	32,79 ± 2,94a	1,09 ± 0,05ab	163,26 ± 11,97a	6,97 ± 0,53b

<sup>1</sup>T1= Controle – sem déficit hídrico; T2 = Déficit hídrico; T3 = sem déficit hídrico + FMA *Claroideogomus etunicatum* e T4 = déficit hídrico + *Claroideogomus etunicatum*. <sup>2</sup>Médias (n=6) seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan (p≤0,05).

Fonte: Autores.

### 3.2 Influência dos FMAs no crescimento de plantas de manjeriço submetidas ao déficit hídrico

Ao submeter as plantas de manjeriço ao estresse hídrico e sem a inoculação dos FMAs (T2) observamos que houve uma redução significativa do crescimento (Tabela 2). No tratamento onde as plantas foram submetidas ao déficit hídrico (T2) apresentou redução no diâmetro do caule, MFPA, MFR, CPA e CR em 34,25, 76,33, 83,91, 22,21 e 32,50%, respectivamente em relação ao controle sem FMAs (T1). A inoculação de FMAs em plantas sob estresse mitigou o efeito deletério da seca no diâmetro do caule. Em contrapartida, a presença dos FMAs em plantas sob estresse (T4) não apresentaram diferenças significativas nos parâmetros de MFPA, MFR, CPA e CR, em comparação ao controle sem FMAs (T2), embora foi observado um aumento de 5,41 e 10,06% no CPA e CR, respectivamente.

O déficit hídrico afeta drasticamente a produtividade das culturas e, os fungos micorrízicos são conhecidos por sua capacidade de promover o crescimento das plantas sob condições estressantes devido ao seu efeito benéfico na raiz, já que quando em simbiose com a planta auxiliam na maior absorção de água e nutrientes, promovem o aumento da fotossíntese, acúmulo de osmoprotetores e elevam a produção de enzimas antioxidantes (Santander et al., 2017; Mathur et al., 2019; Al-Arjani et al., 2020). O FMA *Glomus intraradices* em simbiose com *Ocimum gratissimum* sob estresse hídrico, auxiliou no crescimento da parte aérea e do sistema radicular (Hazzoumi et al., 2015). Resultados semelhantes foram observados por Garcia et al. (2019), no qual o autor observou que fungos micorrízicos melhoram a absorção de água e nutrientes promovendo um maior crescimento em situação de estresse. Desta forma, a inoculação de plantas com FMAs em áreas propensas a ocorrências de estresse hídrico podem ajudar a melhorar o crescimento da planta.

**Tabela 2.** Diâmetro do caule (Ø Caule) (cm), massa fresca da parte aérea (MFPA) (g), massa fresca raiz (MFR) (g), comprimento da parte aérea (CPA) (cm) e comprimento da raiz (CR) (cm) do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) em resposta ao fungo micorrízico arbuscular *Claroideogomus etunicatum*, sob estresse hídrico.

Tratamento	Ø Caule	MFPA	MFR	CPA	CR
T1 <sup>1</sup>	3,97 ± 0,10a <sup>2</sup>	8,03 ± 0,66a	1,43 ± 0,18a	25,17 ± 0,88a	14,43 ± 1,24a
T2	2,61 ± 0,13c	1,90 ± 0,31c	0,23 ± 0,03b	19,59 ± 1,05bc	9,74 ± 1,11b
T3	3,68 ± 0,12a	4,97 ± 0,69b	0,46 ± 0,04b	22,83 ± 1,25ab	14,54 ± 1,92a
T4	3,20 ± 0,14b	1,65 ± 0,29c	0,23 ± 0,01b	20,65 ± 0,62bc	10,72 ± 1,19b

<sup>1</sup>T1= Controle – sem déficit hídrico; T2=Déficit hídrico; T3= sem déficit hídrico + FMA *Claroideogomus etunicatum* e T4= déficit hídrico + *Claroideogomus etunicatum*. <sup>2</sup>Médias (n=6) seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan (p≤0,05).

Fonte: Autores.

### 3.3 FMAs melhoram as respostas fisiológicas e antioxidantes de plantas submetidas à seca

Quanto a avaliação do índice de clorofila, houve diferença estatística somente no tratamento com estresse hídrico (T2) (Tabela 3). Segundo Cornic e Fresneau (2002) e Hazzoumi et al. (2015), o estresse hídrico tem um efeito negativo no conteúdo de clorofila, no qual há uma diminuição na fotossíntese ocasionado por uma perturbação no metabolismo de carbono e de certas enzimas envolvidas no processo de regulação destas reações fotossintéticas. As plantas colonizadas pelos FMAs (T4) apresentaram maior conteúdo de clorofila quando comparadas com as sem FMAs e sob estresse hídrico (T2) (Tabela 3). Isso pode ser atribuído ao estresse de

seca, no qual a disponibilidade de água era mínima; portanto, o conteúdo de clorofila diminuiu drasticamente (Tabela 3). No entanto, no tratamento com FMAs e submetido à seca, devido à presença de FMAs, essas plantas podem ter obtido água através das hifas, exibindo maior conteúdo de clorofila.

O teor reativo de água (TRA%) diferiu estatisticamente somente no tratamento com estresse hídrico (T2), em que apresentou um decréscimo de 213,11% quando comparado ao controle (T1) e de 191,06% sob condição de estresse e com inoculação de FMAs (T4) (Tabela 3). Além disso, a inoculação de FMAs (T3 e T4) reduziu o dano da membrana (DM%) em comparação com plantas não inoculadas (T1 e T2). Plantas de manjeriço submetidas à seca e sem FMAs (T2) apresentaram significativamente o maior vazamento de eletrólitos do que as plantas inoculadas com FMAs e sob estresse hídrico (T4). O declínio no acúmulo de água nas folhas devido ao estresse hídrico leva ao fechamento estomático, reduzindo a absorção de água, diminuindo o fornecimento de CO<sub>2</sub> além de causar danos da membrana. Neste trabalho, a presença dos FMAs protegeu as plantas de manjeriço submetidas ao déficit hídrico. Este resultado corrobora com o trabalho de Porcel e RuizLozano (2004), onde esses autores observaram que as plantas com micorrizas apresentam um maior potencial hídrico foliar em comparação com plantas controle e submetidas à seca. A causa provável do aumento da captação de água em plantas inoculadas com os FMAs pode ser devido à regulação estomática por meio de sinais hormonais, que de forma indireta aumenta a absorção de fósforo e outros nutrientes, ocasionando um maior ajuste osmótico e alta condutividade hidráulica de raiz do que plantas não inoculadas com as micorrizas (Zhu et al., 2012).

A melhor eliminação de radicais (DPPH) foi obtida com a inoculação com *C. etunicatum* (T3), com um acréscimo de aproximadamente 14,22% em relação ao controle (Tabela 3). Mesmo quando a planta de manjeriço foi submetida à seca (T4) observa-se que houve um aumento da atividade antioxidante em relação ao controle sem FMAs (T2). Os resultados desse estudo estão de acordo com os resultados encontrados em gerânio (*Pelargonium graveolens* L.) (Amiri et al., 2017) e patchouli (*Pogostemon patchouli*) (Selvaraj et al., 2009). Uma maior atividade antioxidante em plantas colonizadas com FMAs pode estar relacionada a uma melhoria da nutrição e do crescimento das plantas (Maya & Matsubara, 2013). Além disso, plantas inoculadas apresentam uma maior quantidade de flavonóides e compostos fenólicos que exibem uma correlação positiva com a atividade antioxidante, o que pode refletir em respostas de defesa sob condições adversas (Maya & Matsubara, 2013; Amiri et al., 2017).

**Tabela 3.** Índice de clorofila, teor relativo de água (TRA%), dano da membrana (DM%) e atividade antioxidante DPPH (%) do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) em resposta ao fungo micorrízico arbuscular *Claroideogomus etunicatum*, sob estresse hídrico.

Tratamento	Clorofila	TRA%	DM%	DPPH (%)
T1 <sup>1</sup>	34,93 ± 0,04a <sup>2</sup>	76,05 ± 3,29a	14,09 ± 0,03c	4,84 ± 0,10b
T2	29,69 ± 1,17b	24,40 ± 5,11b	71,60 ± 0,09a	4,75 ± 0,15b
T3	35,72 ± 0,01a	79,67 ± 4,92a	14,92 ± 0,08c	5,54 ± 0,64a
T4	32,24 ± 1,13a	71,02 ± 2,42a	67,35 ± 1,15b	4,95 ± 0,084b

<sup>1</sup>T1= Controle – sem déficit hídrico; T2=Déficit hídrico; T3= – sem déficit hídrico + FMA *Claroideogomus etunicatum* e T4= déficit hídrico + *Claroideogomus etunicatum*. <sup>2</sup>Médias (n=6) seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan (p≤0,05).

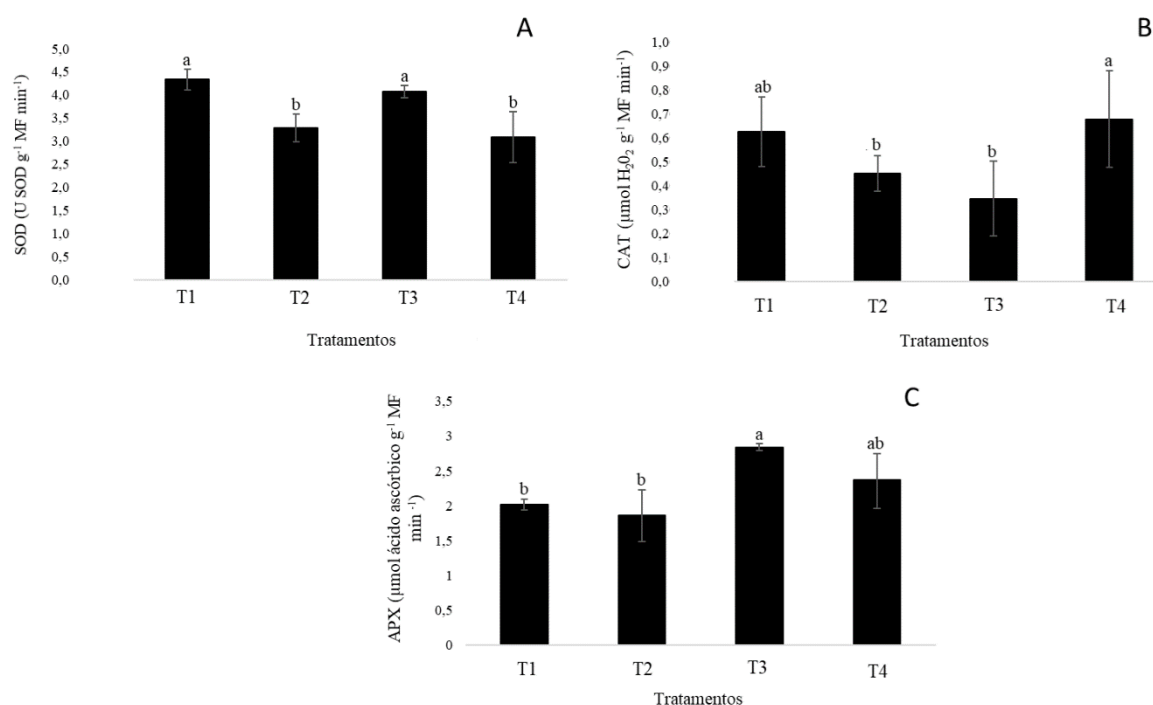
Fonte: Autores.

A enzima SOD teve a sua atividade reduzida nas folhas das plantas sob déficit hídrico não mostrando diferença significativa em plantas inoculadas (T4) ou não com os FMAs (T2) (Figura 1A). Entretanto, as enzimas CAT e APX foram significativamente maiores nas plantas de *O. basilicum* sob estresse e inoculadas com FMAs (T4) do que em plantas não inoculadas (T2) (Figura 1B e C). A inoculação pelos FMAs estimulou a atividade da CAT e APX em 51,1% e 26,2%, respectivamente, nas plantas no tratamento T4 em relação a T2. Esses resultados indicam que os FMAs diminuem o potencial de dano oxidativo por meio do aumento da regulação enzimática do sistema antioxidante nessas plantas.

Além disso, o aumento do metabolismo antioxidante, melhorou a estabilidade da membrana plasmática no qual mostrou uma redução de 6,07% de danos à membrana celular ao compararmos o tratamento T4 com as plantas do T2. Isso mostra que as plantas inoculadas com FMAs sofreram menos com o estresse hídrico devido ao papel dos fungos micorrízicos melhorarem o teor relativo de água e/ou aumentar as atividades das enzimas antioxidantes (SOD, CAT e APX) envolvidas na eliminação de EROs. As enzimas antioxidantes participam de forma sequencial contra o estresse oxidativo induzido pela seca. SOD atua como primeira linha de defesa, eliminando radicais superóxidos em água e peróxido de hidrogênio (Moustaka et al., 2015). O peróxido de hidrogênio é convertido em água e oxigênio por CAT ou APX (Caverzan et al., 2016; Ahanger & Aggarwal, 2017). Esses resultados são consistentes com estudos relatados anteriormente em outras espécies de plantas (Tyagi et al., 2017; Gholinezhad et al., 2020).



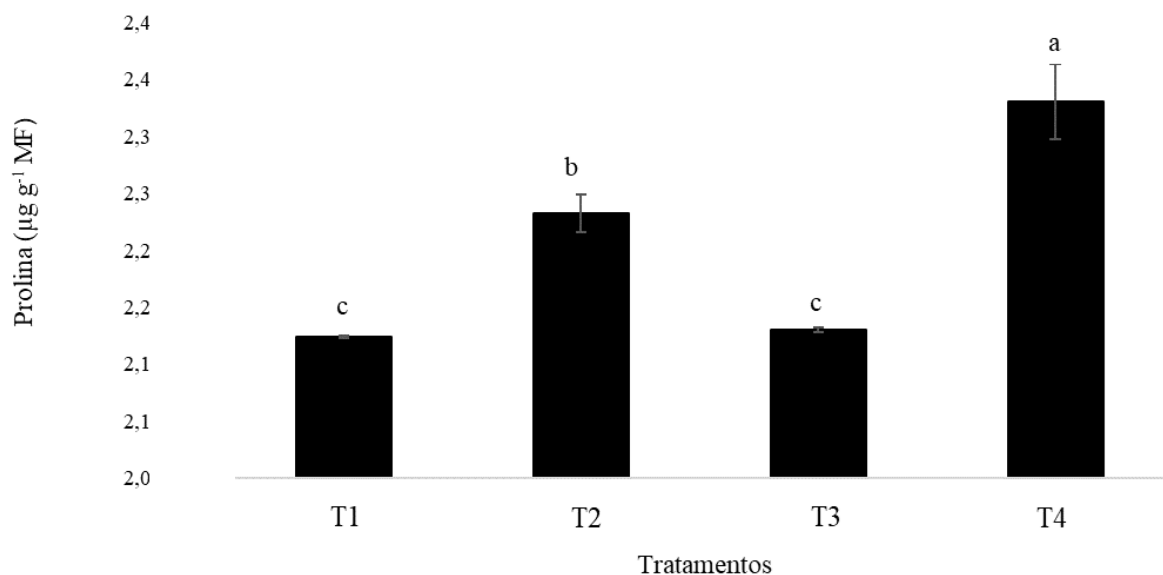
**Figura 1.** Efeito do estresse hídrico nas enzimas SOD (A), CAT (B) e APX (C) em plantas de *Ocimum basilicum* L. inoculadas com o FMA *Claroideogomus etunicatum* (T1= Controle – sem déficit hídrico; T2 = Déficit hídrico; T3 = sem déficit hídrico + FMA *Claroideogomus etunicatum* e T4 = déficit hídrico + *Claroideogomus etunicatum*). Médias (n=3) seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan ( $p \leq 0,05$ ).



Fonte: Autores.

A prolina aumentou significativamente nas folhas das plantas de *O. basilicum* inoculadas com FMAs em condições de estresse hídrico (T4) (Figura 2). O estresse hídrico desencadeou a síntese de prolina em plantas não inoculadas (T2), mas sua síntese foi aumentada pela inoculação de FMAs (T4) (Figura 2). Resultados semelhantes foram encontrados por Yooyongwech et al. (2013), Zhang et al. (2019) e Tisarum et al. (2019) que relataram um aumento de prolina no tratamento com FMAs, no qual influenciou a resposta de defesa osmorregulatória e melhorou as relações hídricas nos tecidos vegetais. Além de seu papel como osmólito, a prolina contribui para a eliminação das EROs, estabilizando estruturas subcelulares e modulando a homeostase redox celular (Sharma et al., 2011; Kavi Kishor & Sreenivasulu, 2014; Lei et al., 2016). Neste estudo, os FMAs induziram o acúmulo de prolina, o que corrobora seu papel benéfico no crescimento do manjeriço submetido à seca.

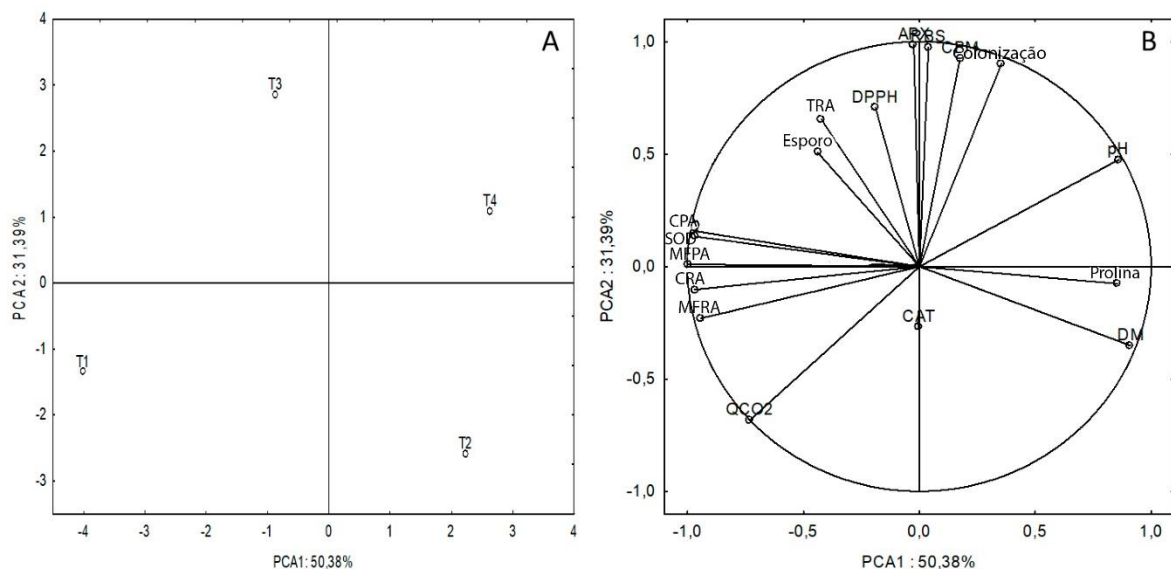
**Figura 2.** Efeito do estresse hídrico no teor de prolina em plantas de *Ocimum basilicum* L. inoculadas com FMA *Claroideogomus etunicatum* (T1 = Controle – sem déficit hídrico; T2 = Déficit hídrico; T3 = sem déficit hídrico + FMA *Claroideogomus etunicatum* e T4 = déficit hídrico + *Claroideogomus etunicatum*). Médias (n=3) seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan ( $p \leq 0,05$ ).



Fonte: Autores.

Para avaliar a contribuição de cada parâmetro estudado em plantas de manjeriço inoculadas com FMAs ou não e em condições de estresse hídrico ou não, realizou-se a análise de componentes principais (ACP) utilizando os parâmetros agrônômicos, microbiológicos, fisiológicos e bioquímicos. A análise de ACP apresentou uma variância total de 81,77%, no qual as componentes principais PC1 e PC2 explicam 50,38% e 31,39% da variância total, respectivamente (Figura 3A). Entre os parâmetros avaliados, prolina, pH, colonização, CBM, RBS e APX foram associados positivamente com o tratamento sob estresse e inoculado com FMAs (T4). DPPH, TRA, esporos, CPA, MFPA e SOD, foram positivamente correlacionados com a inoculação com *C. etunicatum* (T3) (Figura 3A e B). Esses resultados sugerem que a inoculação com FMAs em manjeriço regularam positivamente a síntese de osmólitos (prolina) e a ação combinada dos sistemas antioxidantes enzimáticos (APX e SOD) e não enzimático (DPPH), o que poderia proteger as membranas celulares do excesso de EROs gerados devido ao estresse hídrico, promovendo tolerância à seca e consequentemente o aumento do crescimento da planta em situações adversas.

**Figura 3.** Representação biplot dos tratamentos em função dos parâmetros analisados de acordo com a análise de componentes principais (PCA). T1: Controle – sem déficit hídrico; T2: Déficit hídrico; T3: – sem déficit hídrico + *Claroideoglo mus etunicatum* e T4: Déficit hídrico + *Claroideoglo mus etunicatum*. pH= Potencial de hidrogênio (pH (CaCl<sub>2</sub>)); Esporo= densidade de esporos do fungo micorrízico arbuscular (FMA); colonização=colonização radicular por FMAs; RBS=respiração basal do solo; CBM= carbono da biomassa microbiana; QCO<sub>2</sub>=coeficiente metabólico; MFPA= massa fresca da parte aérea; MFR= massa fresca raiz; CPA=comprimento da parte aérea; CR=comprimento da raiz; clorofila= índice de clorofila, TRA= teor relativo de água; DM=dano da membrana; DPPH= atividade antioxidante 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH); SOD=superóxido dismutase; CAT = catalase ; APX= ascorbato peroxidase e Prolina=prolina.



Fonte: Autores.

#### 4. Conclusão

Em conclusão, a atividade de FMAs nas plantas de manjeriço demonstrou de maneira geral ser benéfica quanto a sua proteção ao estresse hídrico, em que isso pode ser averiguado diante das análises de solo (densidade de esporos, colonização radicular, RBS e CBM), nos parâmetros fisiológicos (diâmetro do caule, conteúdo de clorofila e DM%) e no sistema antioxidante (DPPH, CAT, APX e prolina). Apesar da presença de água no ambiente de cultivo ter se mostrado escassa, os microrganismos foram efetivos em mitigar os efeitos do estresse. Um dos fatores para tal adaptação das plantas nesse local pode ter se dado em decorrência de que, quando em simbiose com as raízes do manjeriço, os FMAs podem ter promovido maior

absorção de água e nutrientes, o que auxiliou na melhora do seu ajuste osmótico, na produção de sua clorofila e conseqüentemente no aumento da sua atividade antioxidante, auxiliando dessa maneira no aumento da sobrevivência das plantas no ambiente em questão. Assim, vê-se a importância de se utilizar os FMAs na agricultura em condições ambientais adversas, em decorrência de não somente melhorar os aspectos de crescimento, mas ainda ajudar quanto a proteção aos danos ocasionados por estes fatores. Novos estudos deverão ser conduzidos com intuito de testar diferentes espécies de FMAs, além de explorar o uso de fertilizantes biológicos fúngicos de micorrizas arbusculares para melhorar a produção de plantas medicinais em ambientes que podem ocorrer situações de estresses abióticos.

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem à UNIPAR e à Fundação Araucária pelo suporte financeiro e à CAPES e CNPq pelas bolsas de estudos.

### **Declaração de Divulgação**

Os autores declaram não haver competição de interesse e permitem a divulgação.

### **Referências**

Ahanger, M. A., & Agarwal, R. M. (2017). Salinity stress induced alterations in antioxidant metabolism and nitrogen assimilation in wheat (*Triticum aestivum* L.) as influenced by potassium supplementation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 115, 449–460.

Ait-El-Mokhtar, M., Baslam, M., Ben-Laouane, R., Anli, M., Boutasknit, A., Mitsui, T., Wahbi, S., & Meddich, A. (2020). Alleviation of detrimental effects of salt stress on date palm (*Phoenix dactylifera* L.) by the application of arbuscular mycorrhizal fungi and/or compost. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4(131), 1-19.

Allen, M. F. (2006). Water dynamics of mycorrhizas in arid soils. In: Gadd G.M. (Ed.), *Fungi in Biogeochemical Cycles*. Cambridge University Press; Cambridge, UK.

Ali, S., Liu, Y., Ishaq, M., Shah, T., Ilyas, A. & Din, I. (2017). Climate change and its impact on the yield of major food crops: evidence from Pakistan. *Foods*, 6(6), 39-58.

Al-Arjani, A. F., Hashem, A., & Abd-Allah, E. F. (2020). Arbuscular mycorrhizal fungi modulates dynamics tolerance expression to mitigate drought stress in *Ephedra foliata* Boiss. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(1), 380-394.

Amiri, R., Nikbakht, A., Rahimmalek, M., & Hosseini, H. (2017). Variation in the essential oil composition, antioxidant capacity, and physiological characteristics of *Pelargonium graveolens* L. inoculated with two species of mycorrhizal fungi under water deficit conditions. *Journal of Plant Growth Regulation*, 36, 502-515.

Anderson, T. H. (2003). Microbial eco-physiological indicators to assess soil quality. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 98(1-3), 285–293.

Anderson, M. D., Prasad, T. K., & Stewart, C. R. (1995). Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. *Plant Physiology*, 109(4), 1247-1257.

Barcelos, R. C., Jham, G. N., Dhingra, O. D., Mendonça, F. A., & Valente, V. M. (2013). Identification and quantification of the major fungitoxic components of the Brazilian basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. *Journal of Food Research*, 2(5), 124-131.

Bates, L., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.

Brookes, P. C., Powlson, D. S., & Jenkinson, D. S. (1982). Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 14(4), 319-329.

Carneiro, M. M. L. C., Deuner, S., Oliveira, P. V., Teixeira, S. B., Sousa, C. P., Bacarin, M. A., & Moraes, D. M. (2011). Atividade antioxidante e viabilidade de sementes de girassol após estresse hídrico e salino. *Revista Brasileira de Sementes*, 33(4), 752-761.

Caverzan, A., Casassola, A., & Brammer, S. P. (2016). Antioxidant responses of wheat plants under stress. *Genetics and Molecular Biology*, 39(1), 1-6.

Chai, Q., Gan, Y., Zhao, C., Xu, H. L., Waskom, R. M., Niu, Y., & Siddique, K. H. M. (2015). Regulated deficit irrigation for crop production under drought stress. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 36(3), 1-21.

Cornic, G., & Fresneau, C. (2002). Photosynthetic carbon reduction and carbon oxidation cycles are the main electron sinks for photosystem II activity during a mild drought. *Annals of Botany*, 89(7), 887–894.

Duc, N. H., Csintalan, Z., & Posta, K. (2018). Arbuscular mycorrhizal fungi mitigate negative effects of combined drought and heat stress on tomato plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 132, 1-30.

El-Esawi, M. A., Elansary, H. O., Elshanhory, N., Abdel-Hamid, A. M. E., & Elshikh, M. S. (2017). Salicylic acid-regulated antioxidant mechanisms and gene expression enhance *Rosemary* performance under saline conditions. *Frontiers in Physiology*, 8(716), 1-14.

Garcia, C. L., Dattamudi, S., Chanda, S., & Jayachandran, K. (2019). Effect of salinity stress and microbial inoculations on glomalin production and plant growth parameters of snap bean (*Phaseolus vulgaris*). *Agronomy*, 9(9), 545-566.

Gerdemann, J. W., & Nicolson, T. H. (1963). Spores of mycorrhizal endogene species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*, 46, 235-244.

Gholinezhad, E., Darvishzadeh, R., Moghaddam, S. S., & Popović-Djordjević, J. (2020). Effect of mycorrhizal inoculation in reducing water stress in sesame (*Sesamum indicum* L.): The assessment of agrobiochemical traits and enzymatic antioxidant activity. *Agricultural Water Management*, 238, 1-11.

Giannopolitis, C. N., & Ries, S. K. (1977). Superoxide dismutases: Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 59(2), 309-314.

Giovanetti, M., & Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 84(3), 489-500.

Golubkina, N., Logvinenko, L., Novitsky, M., Zamana, S., Sokolov, S., Molchanova, A., Shevchuk, O., Sekara, A., Tallarita, A., & Caruso, G. (2020). Yield, essential oil and quality performances of *Artemisia dracunculus*, *Hyssopus officinalis* and *Lavandula angustifolia* as affected by arbuscular mycorrhizal fungi under organic management. *Plants*, 9(3), 375-391.

Gomes, M. M. A., Lagôa, A. M. M. A., Medina, C. L., Machado, E. C., & Machado, M. A. (2004). Interactions between leaf water potential, stomatal conductance and abscisic acid content of orange trees submitted to drought stress. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 16, 155-161.

González-González, M. F., Ocampo-Alvarez, H., Santacruz-Ruvalcaba, F., Sánchez-Hernández, C. V., Cassarubias-Castillo, K., Becerril-Espinosa, A., Castañeda-Nava, J. J., & Hernández-Herrera, R. M. (2020). Physiological, ecological, and biochemical implications in tomato plants of two plant biostimulants: arbuscular mycorrhizal fungi and seaweed extract. *Frontiers in Plant Science*, 11(999), 1-18.

Havir, E. A., & McHale, N. A. (1987). Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiology*, 84(2), 450-455.

Hamurcu, M., Khan, M. K., Pandey, A., Ozdemir, C., Avsaroglu, Z. Z., Elbasan, F., Omay, A. H., & Gezgin, S. (2020). Nitric oxide regulates watermelon (*Citrullus lanatus*) responses to drought stress. *Biotechnology*, 10(494), 1-14.

Hazzoumi, Z., Moustakime, Y., Elharchli, E. H., & Khalid, A. (2015). Effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and water stress on growth, phenolic compounds, glandular hairs, and yield of essential oil in basil (*Ocimum gratissimum* L). *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 2(1), 1-11.

Hoagland, D. R., & Arnon, D. I. (1950). The water culture method for growing plants without soils. *California Agricultural Experiment Station*.

Jenkinson, D. S., & Powelson, D. S. (1976). The effects of biocidal treatments on metabolism in soil-I. Fumigation with chloroform. *Soil Biology and Biochemistry*, 8(3), 167-177.

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 and Biochemistry*, 42(1), 1-13.

Kavoosi, G., & Amirghofran, Z. (2017). Chemical composition, radical scavenging and antioxidant capacity of *Ocimum basilicum* essential oil. *Journal of Essential Oil Research*, 29(2), 189–199.

Kavi Kishor, P. B., & Sreenivasulu, N. (2014). Is proline accumulation per se correlated with stress tolerance or is proline homeostasis a more critical issue? *Plant, Cell and Environment*, 37(2), 300-311.

Latef, A. A. H. A., Hashem, A., Rasool, S., Abd-Allah, E. F., Alqarawi, A. A., Egamberdieva, D., Jan, S., Anjum, N. A., & Ahmad, P. (2016). Arbuscular mycorrhizal symbiosis and abiotic stress in plants: a review. *Journal of Plant Biology*, 59, 407-426.

Lei, P., Xu, Z., Liang, J., Luo, X., Zhang, Y., Feng, X., & Xu, H. (2016). Poly ( $\gamma$ -glutamic acid) enhanced tolerance to salt stress by promoting proline accumulation in *Brassica napus* L. *Plant and Growth Regulation*, 78, 233–241.

Li, J., Meng, B., Chai, H., Yang, X., Song, W., Li, S., Lu, A., Zhang, T., & Sun, W. (2019). Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate drought stress in C<sub>3</sub> (*Leymus chinensis*) and C<sub>4</sub> (*Hemarthria altissima*) grasses via altering antioxidant enzyme activities and photosynthesis. *Frontiers in Plant Science*, 10(499), 1-12.

Mahdavia, H., Rezaei-Chiyaneh, E., Rahimi, A., & Mohammadkhani, N. (2019). Effects of fertilizer treatments on antioxidant activities and physiological traits of basil (*Ocimum basilicum* L.) under water limitation conditions. *Journal of Medicinal Plants and By-products*, 2, 143-151.



Mancosu, N., Snyder, R. L., Kyriakakis, G., & Spano, D. (2015). Water scarcity and future challenges for food production. *Water*, 7(3), 975–992.

Mathur, S., Tomar, R. S., & Jajoo, A. (2019). Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) protects photosynthetic apparatus of wheat under drought stress. *Photosynthesis Research*, 139(3), 227-238.

Maya, M. A., & Matsubara, Y. I. (2013). Influence of arbuscular mycorrhiza on the growth and antioxidative activity in cyclamen under heat stress. *Mycorrhiza*, 23, 381-390.

Miller, G., Suzuki, N., Ciftci-Yilmaz, S., & Mittler, R. (2010). Reactive oxygen species homeostasis and signaling during drought and salinity stresses. *Plant, Cell & Environment*, 33, 453–467.

Moreira, F. M. S., & Siqueira, J. O. (2006). Microbiologia e bioquímica do solo. Lavras: UFLA.

Mota, I., Sánchez-Sánchez, J., Pedro, L. G., & Sousa, M. J. (2020). Composition variation of the essential oil from *Ocimum basilicum* L. cv. Genovese Gigante in response to *Glomus intraradices* and mild water stress at different stages of growth. *Biochemical Systematics and Ecology*, 90, 1-14.

Moustaka, J., Tanou, G., & Adamakis, I. D. (2015). Leaf age-dependent photoprotective and antioxidative response mechanisms to paraquat-induced oxidative stress in *Arabidopsis thaliana*. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(6), 1-18.

Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5), 867-880.

Neto, L. P., Souza, L. M., Morais, M. B., Arruda, E., Figueiredo, R. C. B. Q., Albuquerque, C. C., & Ulisses, C. (2020). Morphophysiological and biochemical responses of *Lippia grata* Schauer (Verbenaceae) to water deficit. *Journal of Plant Growth Regulation*, 39, 26-40.

Novello, P. F. A. M., Bonacina, C., Stracieri, J., Campos, C. F. de A. A., Gonçalves, J. E., Gazim, Z. C., & Souza, S. G. H. de. (2020). Water deficit induces changes in grown, oxidative

metabolism and phenylpropanoids biosynthesis in *Ocimum basilicum* L. *Research, Society and Development*, 9(11), e74591110590.

Pellegrino, E., Di Bene, C., Tozzini, C., & Bonari, E. (2011). Impact on soil quality of a 10-year-old short-rotation coppice poplar stand compared with intensive agricultural and uncultivated systems in a Mediterranean area. *Agriculture, Ecosystems & Environmental*, 140(2), 245-54.

Poonkodi, K. (2016). Chemical composition of essential oil of *Ocimum basilicum* L. (basil) and its biological activities-an overview. *Journal of Critical Reviews*, 3(3), 56–62.

Porcel, R., & Ruiz-Lozano, J. M. (2004). Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. *Journal of Experimental Botany*, 55(403), 1743–1750.

Portes, M. T., Alves, T. H., & Souza, G. M. (2006). Water deficit affects photosynthetic induction in *Bauhinia forficata* Link (Fabaceae) and *Esenbeckia leiocarpa* Engl. (Rutaceae) growing in understorey and gap conditions. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18(4), 491-502.

Rouached, A., Slama, I., Zorrig, W., Jdey, A., Cukier, C., Rabhi, O. T., Limami, A. M., & Abdelly, C. (2013). Differential performance of two forage species: *Medicago truncatula* and *Sulla carnosa* under water deficit stress and recovery. *Crop & Pasture Science*, 64(3), 254-264.

Rubab, S., Hussain, I., Khan, B. A., Unar, A. A., Abbas, K. A., Khichi, Z. W., Khan, M., Khanum, S., Rehman, K. U., & Khan, H. (2017). Biomedical description of *Ocimum basilicum* L. *Journal of Islamic International Medical College*, 12(1), 59-67.

Rufino, M. S. M., Alves, R. E., Brito, E. S., Morais, S. M., Sampaio, C. G., Pérez-Jiménez, J., & Saura-Calixto, F. D. (2007). *Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH*. Comunicado Técnico nº 127. Fortaleza: EMBRAPA.

Salam, E. A., Alatar, A., & El-Sheikh, M. A. (2017). Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi alleviates harmful effects of drought stress on damask rose. *Saudi Journal of Biological Science*, 25(8), 1772–1780.

Sambatti, J. A., Junior, I. G. S., Costa, A. C. S., & Tormena, C. A. (2003). Estimativa da acidez potencial pelo método do pH SMP em solos da formação Caiuá - noroeste do estado do Paraná. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 27(2), 257-264.

Santander, C., Aroca, R., Ruiz-Lozano, J. M., Olave, J., Cartes, P., Borie, F., & Cornejo, P. (2017). Arbuscular mycorrhiza effects on plant performance under osmotic stress. *Mycorrhiza*, 27, 639-657.

Schonfeld, M. A., Johnson, R. C., Carwer, B. F., & Mornhinweg, D. W. (1988). Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. *Crop Science*, 28, 526-531.

Selvaraj, T., Nisha, M. C., & Rajeshkumar, S. (2009). Effect of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi on some growth parameters and phytochemical constituents of *Pogostemon patchouli* Pellet. *Maejo Internacional Journal of Science and Technology*, 3(1), 222-234.

Sharma, S., Villamor, J. G., & Verslues, P. E. (2011). Essential role of tissue-specific proline synthesis and catabolism in growth and redox balance at low water potential. *Plant Physiology*, 157(1), 292– 304.

Shirazi, M., Gholami, H., Kavooosi, G., Rowshan, V., & Tafsiry, A. (2014). Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of *Tagetes minuta* and *Ocimum basilicum* essential oils. *Food Science & Nutrition*, 2(2), 146–155.

Silva, S. R. S., Demuner, A. J., Barbosa, L. C. A., Casali, V. W. D., Nascimento, E. A., & Pinheiro, A. L. (2002). Efeito do estresse hídrico sobre características de crescimento e a produção de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. *Acta Scientiarum*, 24, 1363-1368.

Silva, F. C. (2009). *Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes*. Brasília: Embrapa informação tecnológica.

Silveira, J. A. G., Melo, A. R. B., Viégas, R. A., & Oliveira, J. T. A. (2001). Salt-induced effects on the nitrogen assimilation related to growth in cowpea plants. *Environmental and Experimental Botany*, 46(2), 171-179.

Smith, S. E., & Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press, Amsterdam, NL.

STATSOFT, Inc. (2017). *Statistica data analysis software system version 13.1*. Disponível em: < <http://www.statsoft.com>>

Taiz, L., & Zeiger, E. (2017). *Fisiologia vegetal*. Porto Alegre: Artemed.

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 and Biochemistry*, 20(3), 329-335.

Tisarum, R., Theerawitaya, C., Samphumphuang, T., Phisalaphong, M., Singh, H. P., & Cham, S. (2019). Promoting water deficit tolerance and anthocyanin fortification in pigmented rice cultivar (*Oryza sativa* L. subsp. *indica*) using arbuscular mycorrhizal fungi inoculation. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25, 821-835.

Tyagi, S., Sharma, S., Taneja, M., Shumayla, Kumar, R., Sembi, J. K., & Upadhyay, S. K. (2017). Superoxide dismutases in bread wheat (*Triticum aestivum* L.): Comprehensive characterization and expression analysis during development and, biotic and abiotic stresses. *Agri Gene*, 6, 1-13.

Umoh, R. A., Johnny, I. I., Udoh, A. E., Elijah, A. A., Umoh, O. T., & Essiet, L. E. (2020). Comparative evaluation of the larvicidal properties of methanol extracts and fractions of *Ocimum gratissimum* L. and *Ocimum basilicum* L. leaves (Lamiaceae) on the fourth instar larvae of *Culex quinquefasciatus* L. and control of filariasis. *Journal of Complementary and Alternative Medical Research*, 11(3), 24-31.

Vanani, F. R., Shabani, L., SABzalian, M. R., Dehghanian, F., & Winner, L. (2020). Comparative physiological and proteomic analysis indicates lower shock response to drought stress conditions in a self-pollinating perennial ryegrass. *Plos One*, 15(6): e0234317.

Vance, E. D., Brookes, P. C., & Jenkinson, D. S. (1987). An extraction method for measuring soil microbial biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, 19(6), 703-707.

Witt, C., Gaunt, J. L., Galicia, C. C., Ottow, J. C. G., & Neue, H. U. (2000). A rapid chloroform-fumigation extraction method for measuring soil microbial biomass carbon and nitrogen in flooded rice soils. *Biology and fertility of Soils*, 30(5), 510-519.

Yooyongwech, S., Theerawitaya, C., Samphumphuang, T., & Cha-Um, S. (2013). Water-deficit tolerant identification in sweet potato genotypes (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) in vegetative developmental stage using multivariate physiological indices. *Scientia Horticulturae*, 162(23), 242-251.

Zangaro, W., Alves, R. A., Lescano, L. E., & Ansanelo, A. P. (2012). Investment in fine roots and arbuscular mycorrhizal fungi decrease during succession in three Brazilian ecosystems. *Biotropica*, 44(2), 141- 150.

Zhang, Z., Zhang, J., Xu, G., Zhou, L. & Li, Y. (2019). Arbuscular mycorrhizal fungi improve the growth and drought tolerance of *Zenia insignis* seedlings under drought stress. *New Forests*, 50(4), 593-604.

Zhu, X. C., Song, F. B., Liu, S. Q., Liu, T. D., & Zhou, X. (2012). Arbuscular mycorrhizae improves photosynthesis and water status of *Zea mays* L. under drought stress. *Plant, Soil and Environment*, 58(4), 186–191

#### **Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito**

Cristine Bonacina – 20%

Rayane Monique Sete da Cruz – 20%

Izabeli Cardoso Zaina – 20%

Odair Alberton – 20%

Silvia Graciele Hülse de Souza – 20%