



EDITAL Nº 20/2023-FACEPE (COMPET SOLUÇÕES)

(RELATÓRIO TÉCNICO FINAL)

Desenvolvimento de produto e processo para controle de antracnose (*Colletotrichum* sp.) e podridões radiculares da mandioca na cadeia produtiva do Agreste de Pernambuco

Proponente: Sarah Jane Alexandre Medeiros

Executora: INSYGRO Ciência & Tecnologia
Agronômica

Parceira: Cooperativa dos Produtores de
Agricultura Familiar (COOPAF)

Garahuns, PE

Abril (2025)

1. IDENTIFICAÇÃO

A. Identificação do Projeto			
Número do processo:	SIN-0186-5.01/24		
Título da proposta:	Desenvolvimento de produto e processo para controle de Antracnose (<i>Colletotrichum</i> sp.) e podridões radiculares da mandioca na cadeia produtiva do Agreste de Pernambuco		
Início: 23/04/2024	Término: 22/04/2025		
Natureza: (..) Parcial (X) Final () Parcial Retificado () Final Retificado			
Período abrangido por este relatório: 23/04/2024 – 24/10/2024			
B. Empresa/Instituição Executora			
Razão Social: INSYGRO Ciência e Tecnologia Agronômica (CNPJ: 50.983.508/0001-25)			
C. Coordenador Geral/Técnico do Projeto			
Nome: Sarah Jane Alexandre Medeiros (CPF: 117.721.624-85)			
Telefones: (87)9615-5983		E-mail: sarahjanemedeiros@gmail.com	
D. Empresa/Instituição Parceira			
Razão Social: Cooperativa dos Produtores de Agricultura Familiar (COOPAF) (NCPJ: 04.307.071/0001-92)			
Coordenador Geral da Instituição Parceira: Paulo Ferreira Mota (Presidente)			
Perfil da Instituição Parceira:		Cooperativa	
Atividade(s) da Instituição Parceira:		Agronegócio	
E. Recursos Aprovados para o Projeto			
Recursos FACEPE	Contrapartida Financeira	Outra Fonte de Financiamento	TOTAL
R\$ 80.000,00	R\$ 4.100,00	R\$ 0,00	R\$ 84.200,00

2. INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma cultura essencial para mais de um bilhão de pessoas em todo o mundo, especialmente em países tropicais em desenvolvimento (EMBRAPA, 2023; LEBOT, 2022). Também é considerada pela FAO como o alimento do século XXI, segundo mais energético, atrás apenas do arroz (EMBRAPA, 2023; FAO, 2013). Em 2022, a produção global de mandioca foi de aproximadamente 277 milhões de toneladas, enquanto crescia a uma taxa anual cumulativa de cerca de 2,9% no período de 2018 a 2022 (FAO, 2023; FAOSTAT, 2022). Em 2021, o Brasil contribui com 5,7% da produção mundial de mandioca, tornando-se o quinto maior produtor do mundo, atrás da Nigéria, República Democrática do Congo, Tailândia e Gana (FAOSTAT, 2022).

A mandioca é cultivada em todos os estados brasileiros, estando entre os dez produtos agrícolas do país em área cultivada (1,225,012 ha) e o quarto em valor de produção (18,200,277 t) em 2022 (IBGE, 2023). Cerca de 40% das raízes são destinadas à produção de farinha, 20% para amido e o restante é consumido como “mandioca de mesa” e na alimentação animal (EMBRAPA, 2023). Crucial para alimentação e

bioenergia, a mandioca enfrenta desafios como pragas e doenças emergentes que ameaçam as cultivares existentes, geralmente sem resistência (OGWOK et al., 2016). Juntamente com insetos praga, incluindo ácaros, moscas brancas e tripses, a mandioca é acometida por doenças devastadoras, causando perda total da produção (LEBOT, 2020; FATHIMA et al., 2022).

Na região Nordeste do Brasil, a produção de mandioca também é desafiada pela presença de uma ampla gama de patógenos. Conforme relatado por Silva e Andrade (2011), mais de vinte agentes fitopatogênicos são conhecidos por causar a sua podridão radicular, sendo *Phytophthora drechsleri* (Tucker) e *Fusarium solani* (Mart.) frequentemente mencionados. A antracnose é outra doença que afeta gravemente a mandioca, causada por *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.), além de afetar significativamente uma variedade de outras culturas (BELLÉ et al., 2019; HUANG et al., 2020). A antracnose é caracterizada pelos “cancros”, seu sintoma mais típico, também ocorrendo a desfolha, em decorrência das lesões nas hastes, e a morte descendente da planta (PERUCH e BONFIM JULIOR, 2018). A disseminação do fungo é favorecida por períodos chuvosos, mas manivas-semente também são importantes fontes da doença. Alta umidade relativa e temperaturas entre 18 e 23 °C são as condições climáticas mais favoráveis para desenvolvimento da antracnose (FUKUDA, 1986). As cepas de *C. gloeosporioides* também apresentam alta diversidade genética, influenciada pelo local geográfico (ZENG et al., 2023), motor de adaptação e aquisição de resistência aos produtos químicos sintéticos.

A identificação e o manejo adequado dessas doenças na mandioca são essenciais. No entanto, a carência de produtos registrados torna o uso de insumos naturais cada vez mais imperativo, sendo alternativas sustentáveis, renováveis e pouco/nada nocivas ao meio ambiente (CHOUDHURY et al., 2018; RANJITHA et al., 2019; SANTRA & BANERJEE, 2020). Vários compostos naturais extraídos de plantas têm sido promovidos em função da sua elevada eficiência em controlar tanto a multiplicação de esporos quando o crescimento vegetativo de fungos patogênicos (CARVALHO et al., 2022; LIMA et al., 2010; SOUZA et al., 2022; SUBBA e MATHUR, 2022). Compostos antifúngicos extraídos de plantas, como taninos, flavonoides, alcaloides e outros compostos fenólicos, podem ser obtidos por meio de diferentes processos de extração (ZHOU et al., 2023). Alguns dos métodos mais comuns para a obtenção de extratos de plantas incluem o uso de solventes, como etanol, metanol, acetona em sistemas de alta pressão, além do uso de dióxido de carbono supercrítico (SC-CO₂) e arraste por vapor de água (POPOVA e BANKOVA, 2023; TILEUBERDI et al., 2022; CHEIKHYOUSSEF, 2020). Esses métodos são eficazes para extrair os compostos bioativos das plantas, permitindo a obtenção de extratos concentrados e ricos em compostos antifúngicos (SAVARIRAJAN et al., 2021). Os extratos podem ser formulados em diferentes produtos, como biofungicidas, extratos líquidos orgânicos e **fertilizantes organominerais** para uso agrícola sustentável, pois são ecológicos e custo-efetivos em comparação com os fungicidas sintéticos correspondentes (SUBBA e MATHUR, 2022). As indústrias que processam plantas agrícolas geram quantidades consideráveis de produtos e subprodutos ricos em fenólicos, fontes naturais valiosas de moléculas antimicrobianas (OULAHAL e DEGRAEVE, 2022).

O uso dos extratos da Caatinga é uma estratégia promissora no controle de fitopatógenos da mandioca, especialmente porque muitas espécies vegetais nativas possuem compostos bioativos com atividades antifúngica e antioxidante (DEMARTELAERE et al., 2015; VENTUROSIO et al., 2011). A Caatinga é uma das maiores fontes de recursos naturais do mundo, sendo uma das maiores e mais isoladas florestas secas da América do Sul (11% do território do Brasil), abrigando uma diversidade de plantas de interesse

biotecnológico (FERNANDES et al., 2022; QUEIROZ, 2006). A diversidade de plantas na Caatinga é resultado de processos de vegetação induzidos pelo clima e pela aridificação global (FERNANDES et al., 2022). A riqueza de espécies, versatilidade e redundância utilitária são evidentes em um gradiente de precipitação em áreas da Caatinga no semiárido de Pernambuco (SANTOS SOUZA et al., 2023). Portanto, a Caatinga não apenas apresenta uma enorme diversidade de plantas, mas também oferece um potencial biotecnológico significativo através de uma bioprospecção sustentável de extratos vegetais. Essa abundância de recurso naturais da Caatinga comporta muitas espécies de interesse biotecnológico com fácil adaptação às condições de cultivo, multiplicação e manejo em viveiros ou canteiros (ROCHA et al., 2021; GOMES et al., 2024; SOUZA et al., 2012), onde as condições para propagação vegetativa são asseguradas.

Explorar o potencial dos extratos da Caatinga para o controle de antracnoses (*Colletotrichum* spp.) e podridões de *Fusarium* spp. na cultura da mandioca é uma importante linha de pesquisa. Diversas espécies vegetais da Caatinga têm demonstrado potencial para a obtenção de extratos com atividade antifúngica, como: Angico (*Anadenanthera colubrina* e *Anadenanthera macrocarp*); Aroeira-do-Sertão (*Myracrodruon Urundeuva*), Aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius*); Alecrim do campo ou do mato (*Lippia microphylla* e *Lippia schaueriana*); Jurema preta (*Mimosa Hostilis* e *M. tenuiflora*); Aroeira (*Astronium urundeuva*); Catingueira (*Caesalpinia microphylla*); Velame (*Croton heliotropiifolius* e *C. campestris*) e muitas outras, totalizando mais de 60 espécies nativas presentes em muitos municípios do estado de Pernambuco (CARVALHO et al., 2022; PEREIRA Jr., 2014; SOUZA et al., 2022). Resultados publicados por Lima e colaboradores (2010) demonstraram que extratos de alecrim do campo (*Lippia microphylla* Cham) e jurema preta (*Mimosa Hostilis* Mart.) se destacaram com um percentual de inibição de *C. gloeosporioides in vitro* de 88,67% e 47,56%, respectivamente. De acordo com esses autores, outros extratos, como os de aroeira (*Astronium urundeuva* Engl.), catingueira (*Caesalpinia microphylla* Mart.), maniçoba (*Manihot aesculifolia* H.B.K) e angico (*Anadenanthera macrocarp* Benth.), também apresentaram atividade antifúngica significativa.

Diante desses relatos, a presente proposta tem por **OBJETIVO PRINCIPAL** “desenvolver produto(s) e processo(s) para auxiliar no controle biológico dos principais patógenos que causam severos prejuízos fitossanitários e econômicos na cultura da mandioca, em especial a antracnose e as podridões radiculares”. Para tanto, nossa empresa, a **INSYGRO Ciência & Tecnologia Agronômica** (lê-se insáigro), atualmente sediada no município de Garanhuns (PE), consolidou uma parceria com a Cooperativa dos Produtores de Agricultura Familiar (COOPAF), sediada no município de São João (PE).

Como **JUSTIFICATIVA**, a relevância deste projeto se observa em razão das importâncias **social e econômica** da cultura da mandioca para vários municípios do **Agreste de Pernambuco**, em especial em São João, que sedia uma das cooperativas mais ativas e integradas aos agricultores em nosso estado, a **COOPAF**. De acordo com o monitoramento anual de safras, realizado pelo IBGE (2022), o município de São João é um dos principais produtores de culturas relevantes para o estado de Pernambuco, liderando a produção de feijão com 7,56 mil toneladas colhidas do grão e sendo um dos maiores produtores de milho do estado em 2022. São João também disputou o segundo lugar na produção de mandioca com Jupi, município vizinho, que juntos totalizaram 75,6 mil t em 2021 e 36,45 mil t em 2022. Essa redução na safra 2022 foi proporcional a mudança da área plantada/colhida, que passou de 3300 ha para 1500 ha (-54,5%). Segundo produtores locais e a **COOPAF**, a valorização tardia da mandioca, em comparação com outras culturas que competem por espaço, e o crescimento dos custos de produção foram as principais motivações para essa

redução, agravadas pela incidência de doenças fitopatogênicas (podridões e antracnoses). Além disso, de acordo com dados do IBGE (2023), nas últimas safras registradas (2020-2022), São João e outros municípios vizinhos demonstraram um desempenho médio de $\sim 12 \text{ t ha}^{-1}$, enquanto o rendimento médio nacional foi de $\sim 15 \text{ t ha}^{-1}$ (2022). Esses valores também ficaram abaixo dos alcançados por outros municípios situados em Mesorregiões mais áridas de PE, como Itacuruba (18 t ha^{-1}), Cedro (17 t ha^{-1}), Parnamirim (16 t ha^{-1}) e outros, mantendo São João em 22º no rank de produtividade de mandioca, o que também justifica a necessidade de um fertilizante misto com caráter “protetor de plantas”. Esses números suscitaram, principalmente, a seguinte questão: **“quais os principais fatores limitantes da produtividade e da produção de mandioca no Agreste do estado de Pernambuco?”**. Mais informações divulgadas pela COOPAF, EMBRAPA e CEPEA (WCPM, 2020) indicaram que doenças na mandioca foram agravadas pelo excesso de chuvas nas últimas safras em PE, destacando as doenças causadas principalmente pelas espécies *Fusarium* spp., *Lasiodiplodia* spp., *Neoscytalidium* spp., *Phytophthora* spp., *Pythium* spp. e *C. gloeosporioides* (EMBRAPA, 2020).

2. RESUMO GERAL DA EXECUÇÃO DO PROJETO

2.2.1. Expedições em campo, obtenção/propagação de materiais biológicos e protocolos agronômicos

Em conformidade com o cronograma original, no início do projeto, as espécies botânicas para elaboração do produto e processo de produção foram selecionadas com base em estudos anteriores (PEREIRA Jr., 2014; SOUZA et al., 2022; e outros) e testes prévios feitos pela INSYGRO. Ao longo da vigência deste projeto (23/04/2024 – 24/10/2024) foram identificadas cerca de onze espécies botânicas predominantes em propriedades da Região Agreste de PE, sendo potenciais produtoras de compostos antifúngicos fitopatogênicos (**Tabela 1**). Vários produtores com glebas situadas em diferentes municípios circunvizinhos foram receptivos quanto a auxiliar neste projeto e em receber a INSYGRO em suas propriedades. Inicialmente, com auxílio da COOPAF, tivemos acesso as quatro propriedades do município de São João - PE com faixas de terras com predomínio dessas plantas, além de ter os principais produtores de mandioca da Região Agreste (**Figura 1a**), ressaltando a disponibilidade dos senhores Paulo F. Mota, Vanilson P. Silva, Adeilson S. Pacheco e Adigal F. Zumba, sendo que as principais variedades cultivadas foram Sambaqui (**Figura 1b**) e Pai-Antônio (**Figura 1c**), das quais foram disponibilizadas amostras de manivas-sementes para propagação vegetativa para pesquisa e desenvolvimento do produto proposto (**Figura 1d**).

Ainda com o auxílio de colaboradores deste projeto, visitas a propriedades no município de Brejão-PE foram realizadas, em especial a do Sr. Antônio Ferreira, nas quais encontramos maior disponibilidade das plantas em potencial para o processo de extração dos compostos bioativos, especialmente Velame (*Croton* spp.), que é considerada uma “planta daninha” que ocorre em grande proporção em quase todas as unidades agropecuárias visitadas no Agreste. Essas plantas são anualmente combatidas com herbicidas recomendados para o controle de dicotiledôneas em pastagens. Dentre os principais herbicidas, tem predominado o produto comercial Tordon® (2,4-D-trietanolamina + PICLORAM) e seus concorrentes, os quais têm sido empregados sem assistência técnica adequada, havendo problemas relacionados à dosagem correta e a falta de respeito do período de carência dos produtos, indícios de forte risco de impactos ambientais. Isso reforçou ainda mais a necessidade urgente da nossa intervenção, visando tanto a manutenção e aproveitamento dessas daninhas tanto para exploração industrial quanto para a elaboração de

um produto eficiente quanto ao controle de fitopatógenos que acometem as principais culturas agrícolas. Deste modo, essa proposta foca na utilização de insumos naturais com nulo ou baixo impacto ambiental, estando de acordo com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODSs) na ONU, especialmente a promoção de práticas agrícolas sustentáveis (ODS 2), a conservação e uso sustentável dos ecossistemas terrestres (ODS 15) e a promoção de parcerias para o desenvolvimento sustentável (ODS 17).

Tabela 1. Tabela de espécies alvo com alto potencial biotecnológico de extratos botânicos existentes na região.

Nome popular	Nome científico
Alecrim de mocó / Lipia da serra	<i>Lippia schaueriana</i> Mart. ex Schauer
Alecrim do mato	<i>Lippia grata</i> Schauer
Aroeira	<i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão
Camará	<i>Lantana câmara</i> L.
Canelinha, marmeleiro preto e mulatinha	<i>Croton</i> sp.
Marmeleiro comum	<i>Croton sonderianus</i> Müll.Arg.
Quebra-faca	<i>Croton conduplicatus</i> Kunth.
Umburana de cambão	<i>Commiphora leptophloeos</i> (Mart.) J.B. Gillett
Umbuzeiro	<i>Spondias tuberosa</i> Arruda
Velame	<i>Croton heliotropiifolius</i> Kunth.
Velame do campo	<i>Croton campestris</i> A. St. -Hil.



Figura 1. Fotografias de plantios com as principais variedades de mandioca cultivadas no Agreste de PE. (a) Visita a produtores em São João – PE; (b) Plantio da variedade Sambaqui; (c) Plantio da variedade Pai-Antônio; (d) Preparo das manivas sementes para protocolos em campo.

Além de amostras sadias, plantas infectadas também foram coletadas para identificações detalhadas das principais doenças que acometem a cultura, dando o feedback necessário para o desenvolvimento de produtos e técnicas para o controle das doenças (**Figura 2**). No geral, uma série de problemas prejudicam o cultivo o desenvolvimento das plantas de mandioca no Agreste, afetando diretamente a produção regional, incluindo a aplicação inadequada de defensivos químicos (**Figuras 2a-b**), sintomas de mancha bacteriana e mosca-das-galhas nas folhas (**Figura 2c**) e prodrições das raízes comerciais (**Figura 2d**). Dentre as doenças, a antracnose é especialmente grave por necrosar inicialmente o meristema apical, impedindo o crescimento

primário da planta, e posteriormente infectando os demais tecidos, ocasionando a morte das plantas (**Figuras 2e-h**), apresentando rápida infestação em todo o campo de produção. Em todas as propriedades mencionadas e outras não citadas, a INSYGRO se disponibilizou em dar assistência técnica agronômica para auxiliar em melhorias na produção e produtividade da mandioca, além de dar uma atenção especial a cultura do feijão, outra importante fonte de renda e subsistência para os produtores da Região Agreste de PE e em muitas áreas de outros estados brasileiros.

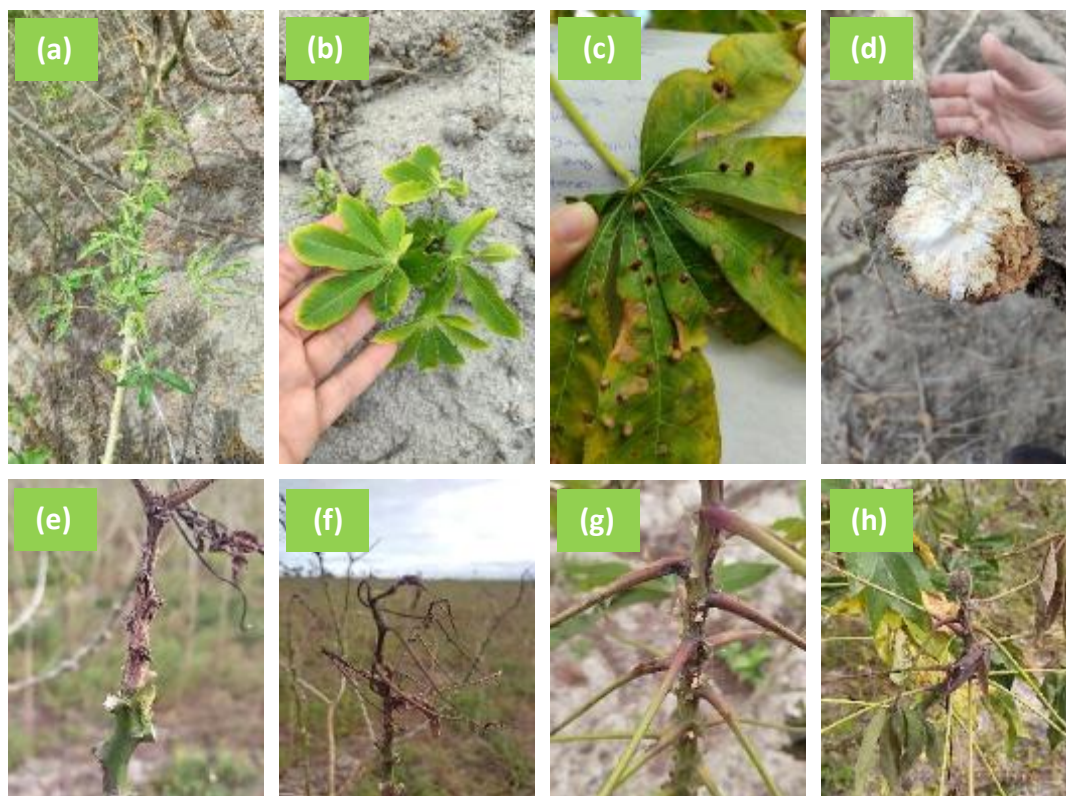


Figura 2. Principais problemas observados nos plantios de mandioca no município de São João (PE) e circunvizinhanças. (a-b) Sintomas de toxicidade nas folhas devido ao manejo com defensivos; (c) Sintomas de mancha bacteriana; (d) Apodrecimento de raízes comerciais por fungos fitopatogênicos de solo; (e-h) Danos severos típicos da antracnose (*C. gloeosporioides*) em mandioca, resultando na morte primária do meristema apical, interrupção do crescimento primário e posterior infecção de outros tecidos, causando a morte da planta.

Com essas iniciativas, duas etapas iniciais mencionadas no cronograma original foram cumpridas: **(1). Expedições rurais e coletas de materiais para pesquisa, experimentação e processamento e (2) Seleção, obtenção e/ou cultivo das espécies botânicas.** A primeira atividade tem um fluxo continuado consistindo numa etapa fundamental para o desenvolvimento do produto, tendo em vista que o foco inicial do projeto foi resolver os problemas vividos por produtores de agricultura familiar cooperados da COOPAF em PE. É fundamental testar novos produtos nas variedades de mandioca mais cultivadas e adaptadas na região (Sambaqui e Santo-Antônio), respeitando as boas práticas dos agricultores da região. Também foi essencial a avaliação prévia do produto INSYGRO em condições *in vitro* antes dos testes em campo. Nessas condições, isolamos e cultivamos os principais morfotipos de fungos fitopatogênicos associados aos problemas mencionados na mandioca (**Figura 4**), também cumprindo a etapa cinco do cronograma **(5) Isolamento dos patógenos e testes *in vitro*.** Os materiais genéticos desses fungos foram extraídos e encaminhados para

laboratório competente na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) para sequenciamento genético e caracterizações taxonômicas para confirmação das espécies, sendo uma etapa auxiliada por um dos colaboradores originais deste projeto, o pesquisador Dr. Carlos Alberto Fragoso de Souza.

Durante a execução do projeto, protocolos de cultivos de rebrota de mandioca nas propriedades dos senhores Adeilson S. Pacheco e Adigal F. Zumba (**Figura 3a**) foram observados de perto, os quais concordaram em testar de modo pioneiro o produto INSYGRO aqui proposto quando concluído e liberado para comercialização. Além disso, protocolos em campo também foram conduzidos na propriedade do Sr. Antônio Ferreira, situada no Sítio Cajazeiras, Brejão (PE) (**Figuras 3b-c**). Para tanto, plantas jovens da variedade Sambaqui foram cultivadas a partir de manivas-sementes obtidas na propriedade do Sr. Adeilson S. Pacheco, procedimentos que estão de acordo com a etapa seis do cronograma **(6) Obtenção de mudas e protocolos em campo**, que foram intensificadas a partir do segundo mês do segundo semestre deste projeto com o objetivo de promover o produto e divulgar os resultados para os produtores e comunidade em geral. É importante ressaltar que ensaios/protocolos de campo são ações continuadas para promover a metodologia INSYGRO e a comercialização futura do produto, prática comum em várias empresas do segmento, mesmo após a conclusão deste projeto. Nessas condições, a avaliação da eficácia do produto em campo foi avaliada por meio de amostragens de plantas e avaliação de incidência e severidade da doença utilizando abordagens reconhecidas, como o percentual de plantas sintomáticas e outras métricas cabíveis.



Figura 3. Cultivos de mandioca em propriedades do Agreste para condução de protocolos de divulgação do produto. (a) Rebrota de plantas de mandioca, cultivar Sambaqui, com cerca de oito meses cultivadas em São João (PE). (b) Propagação vegetativa da variedade Sambaqui em propriedade em Brejão (PE), com plantas aos 30 dias após plantio. (c) planta de mandioca com aproximadamente 6 meses de idade submetidas a tratamento preventivo quinzenal com o produto INSYGRO via aspersão da parte aérea através de pulverizador costal (Brejão, PE).

Vale ressaltar que esses protocolos foram monitorados em áreas reconhecidamente infestadas com os patogênicos, adotando uma densidade de plantio entre 10 e 17 mil plantas h^{-1} . A abordagem adotada possui eficácia comprovadamente eficaz por vários estudos de supressão de patógenos associados a podridão radicular, murcha e até mesmo antracnose em diversas espécies vegetais (ABDEL-GAIED et al., 2020; AHMED et al., 2023; PWAKEN et al., 2020). Como resultados, são esperados tanto o controle da taxa de crescimento micelial quanto o estímulo de atividade de enzimas de defesa das plantas (AHMED et al., 2023). Isso foi observado durante a execução de um projeto de estudo (Mestrado) realizado na UFAPE e

apoiado pela INSYGO, intitulado “**Potencial de extratos de plantas do semiárido no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**”, sob orientação docente Profa. Dra. Kedma Maria Silva Pinto. Neste estudo, foi observado que o uso do óleo essencial de velame promoveu controle eficiente *in vitro* e *in vivo* do patógeno causador da doença denominada mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em plantas de feijão, além de estimular enzimas do estresse oxidativo (Medeiros, 2025 – dados não publicados). Diante dessas respostas e considerando a possibilidade de resistência dos patógenos, o monitoramento contínuo da eficácia do produto INSYGRO e a rotação com outros métodos de controle serão continuamente considerados para prevenir contra o desenvolvimento de possíveis mecanismos de resistência dos patógenos avaliados.

2.2.2. Caracterização filogenética dos isolados obtidos

Os quatro principais isolados fúngicos que ocorreram com maior frequência nas plantas de mandioca da região de São João foram analisados filogeneticamente para validação dos patógenos-alvo (*Colletotrichum* sp. e *Fusarium* sp.) e identificações de outros fungos associados as doenças estudadas (**figura 4**). Adicionalmente, incluímos *Sclerotinia sclerotiorum* (cedido por colaboradores do Oeste da Bahia), patógeno relevante para soja e feijão – culturas críticas no Agreste de Pernambuco, onde causam perdas econômicas significativas. Essa abordagem reforçou o potencial do INSYGRO para aplicação em múltiplas culturas além da mandioca, ampliando suas perspectivas de mercado, incluindo o uso em grandes culturas, como a da soja. Esta proposta já está em diálogo aberto com a empresa GRANSETE Nutrição e Fisiologia Vegetal (Sede no Oeste do estado da Bahia) e será mais bem avaliada após conclusão do processo de análise de patente (processo n. **BR 20 2025 009552 7**) e registro do produto INSYGRO junto ao Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA).

Como mencionado anteriormente, as etapas de extração de DNA genômico e sequenciamento genético foram feitas no Laboratório de Biologia Molecular Aplicada da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) através de apoio de colaborador deste projeto, o Dr. Carlos Alberto Fragoso de Souza, seguindo as seguintes etapas gerais: **(I) Extração de DNA e PCR:** DNA genômico dos isolados foi extraído do cultivo micelial usando CTAB modificado (Doyle e Doyle, 1987), com lise por Proteinase K e purificação com clorofórmio:álcool isoamílico (24:1), seguida de precipitação com isopropanol. A qualidade foi verificada em gel de agarose 1%. A região ITS foi amplificada com os primers ITS1/ITS4 (White et al., 1990) e RPB2-5F/RPB2-7CR (Liu et al., 2000) em PCR (25 µL) contendo Taq polymerase (1U), dNTPs (0,2 mM), tampão 1X e MgCl₂ (2 mM), sob ciclagem: 95 °C (5 min), 35 ciclos de [95 °C (30 s), 52 °C (30 s), 72 °C (45 s)] e extensão final a 72°C (7 min). Os produtos foram visualizados em gel de agarose 2% e purificados com QIAquick (Qiagen®), ficando prontos para a etapa de sequenciamento Sanger (ABI 3500xl, UFPE) e obtenção dos eletroferogramas (*.ab1). **(II) Análises filogenéticas dos dados de sequenciamento:** Esta etapa foi desenvolvida por outro colaborador deste projeto, o Dr. Diogo Paes da Costa, partindo da análise dos dados brutos e conversão para arquivos *.fastq no R (pacote "CrispRvariants"), com filtragem (QS ≥ 33, leituras ≥ 20 bases), se obtendo sequências de ~484 pb de alta qualidade. As árvores filogenéticas dos isolados foi inferida por Máxima Verossimilhança (modelo Tamura-Nei) através do software MEGA11, baseando-se em pesquisa do tipo 'blastn' previamente realizada no banco de dados do NCBI (National Center for Biotechnology

Information; <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>), obtendo-se associações de alta confiabilidade, principalmente para o isolado candidato a *Colletotrichum* spp.

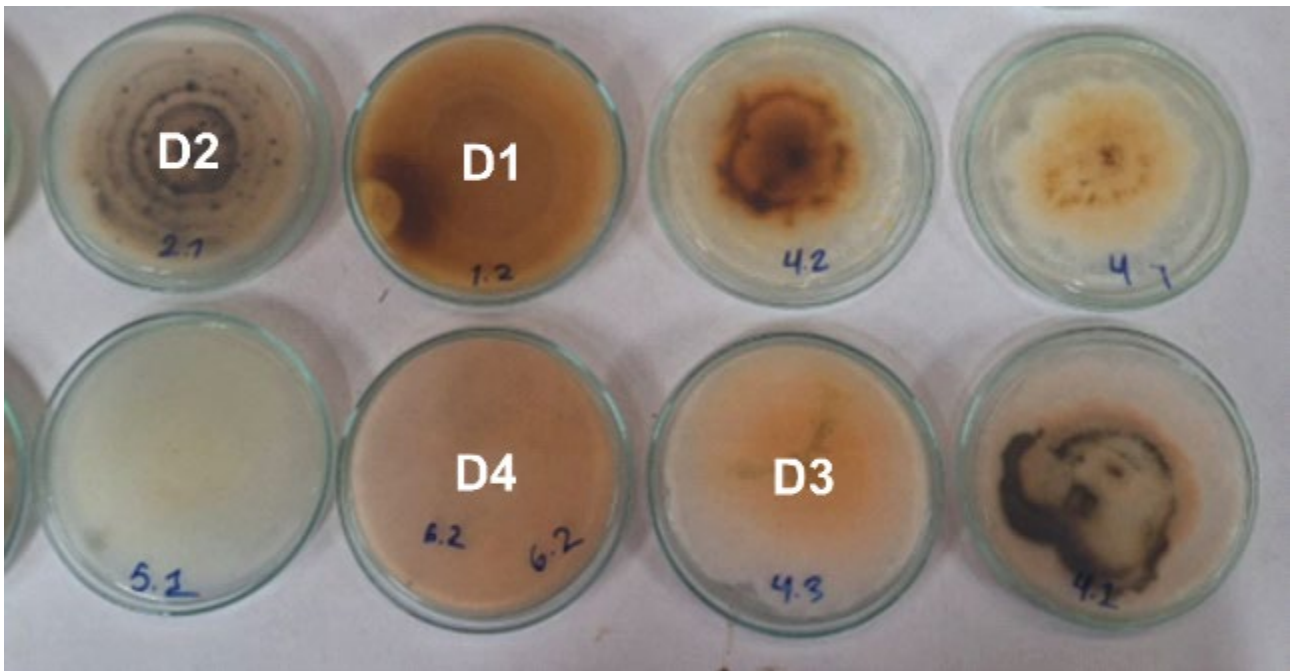


Figura 4. Principais morfotipos de fungos fitopatogênicos isolados de plantas de mandioca com sintomas de antracnose e podridão radicular. Os fungos foram isolados em meio BDA (Batata-Dextrose-Agar) e crescidos a 28°C por uma semana, sendo em seguida submetidos a classificação morfológica/microscópica e filogenética através do sequenciamento genético de região dos genes ITS e RPB2 e comparação no banco de dados internacional NCBI. Fotografia: Sarah J. A. Medeiros (2024). Maiores aproximações filogenéticas: D1 - *Pestalotiopsis* sp.; D2 - *Colletotrichum* sp.; D3 - *Fusarium* sp.; D4 - *Nigrospora* sp. (ver figura 7 mais adiante).

2.2.3. Obtenção de extratos de plantas, projeto da dorna de destilação e preparo do produto

Ao longo de toda vigência do projeto, diversas visitas foram feitas as propriedades rurais situadas nos municípios de São João, Garanhuns, Brejão, Capoeiras e outros, todos na Região Agreste de Pernambuco, divulgando nossa intenção de adquirir ou comprar materiais vegetais oriundos de plantas diversas, até então sem nenhum valor comercial, de acordo com as espécies apresentadas na **Tabela 1**. Até o momento, não houve a necessidade de propagar essas “espécies invasoras” em canteiros individuais para atender a demanda da **INSYGRO** (principalmente o velame), tendo em vista a grande disponibilidade natural após ou durante as safras de culturas como feijão, mandioca/macaxeira, feijão, olerícolas no geral, em áreas de pastagens ou até mesmo em glebas isoladas sem nenhuma serventia agrícola, terrenos baldios, entre outros. Essa iniciativa promoveu uma ação exclusiva na Região Agreste ao propor aos agricultores familiares que, ao invés de utilizarem herbicidas de amplo espectro de controle (2,4-D, Acefato, Atrazina, Cletodim, Clorotalonil, Glifosato, Mancozeb, Malationa, S- metolaclo e outros), passem a preservar e colher certas espécies botânicas para venda e aplicação na indústria, gerando uma alternativa de renda para agricultura familiar. Neste caso, foram destaques para elaboração do produto deste trabalho as espécies de velame (*Croton heliotropiifolius*), sacatinga (*Croton. micans*), marmeleiro (*C. Sonderianus*), alecrim do mato (*Lippia grata*), aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) e várias outras plantas ricas em compostos bioativos.

Vale ressaltar que muitas as plantas selecionadas para obtenção de extratos ainda contribuem para fauna e preservação da natureza, uma vez que sua florada é aproveitada pelas abelhas para fabricação de mel (MENDONÇA et al., 2019; QUEIROZ e FIGUEIRÊDO, 2004), sendo plantas bem conhecidas e caracterizadas com baixo ou nenhum risco ambiental para os agentes polinizadores. Para exemplificar nossa proposta em ação, tendo como base espécies de velame, sugerimos um preço de venda em torno de **R\$ 0,85 por kg de folhas desidratadas**, o que chamou atenção de vários proprietários, ao mesmo tempo que manteve a viabilidade econômica da fabricação do nosso produto (**Figura 5**).



Figura 5. Processamento de material vegetal para extração de compostos voláteis. (a) Forma como os produtores fornecem o material vegetal em sacas padrão de 60 kg. Neste caso, o velame. Mais abaixo, exemplos de alimentação da dorna de destilação com folhas frescas de velame *Croton* spp. (b) e pimeta-rosa (aroeira) *Schinus terebinthifolia* (c).

Além do produto comercial em si, um dos objetivos principais do nosso projeto foi desenvolver um método mais eficiente para obtenção dos extratos de plantas em geral, podendo ser empregado para elaboração de uma variedade de produtos comerciais em potencial. Para alcançar esse objetivo, colaboradores técnicos da INSYGRO desenvolveram um protótipo de “destilador de hidrolatos e óleos essenciais” em colaboração com a Dincox, empresa situada em Garanhuns-PE. Esse equipamento foi financiado pela INSYGRO como contrapartida financeira prevista no projeto original, sendo o dispositivo fundamental para se alcançar as metas previstas (**Figura 6a-c**). O destilador, denominado **VIPER-I**, foi composto por quatro partes principais: **(1) a primeira foi a caldeira** – cilindro de 20 L de capacidade responsável pela geração de vapor de arraste, acionado através de gás GLP acoplado a fogareiro industrial (de alta pressão); **(2) a segunda foi a dorna de destilação** – cilindro com 300 L de capacidade, onde o vapor de água ascende arrastando os compostos voláteis do material vegetal que fica sobre uma grade (~5 cm sobre o fundo); **(3) a terceira parte foi o condensador** – responsável pela captação do hidrolato e de

compostos voláteis no estado líquido; **(4) a quarta parte foi o sistema de resfriamento do condensador** – composto por trocador de calor, ventoinha industrial e conexões para acoplamento nos canais do condensador (**Figura 6c**). Visão geral do objeto final pode ser conferida a seguir (**Figura 6d**). Mais informações sobre esse processo podem ser conferidas na **Figura 8**, apresentada na sessão dos resultados alcançados. Com essas atividades, atingimos a **etapa três** do cronograma – otimizando o processo de **extração dos compostos bioativos para o preparo de formulações diversas**.

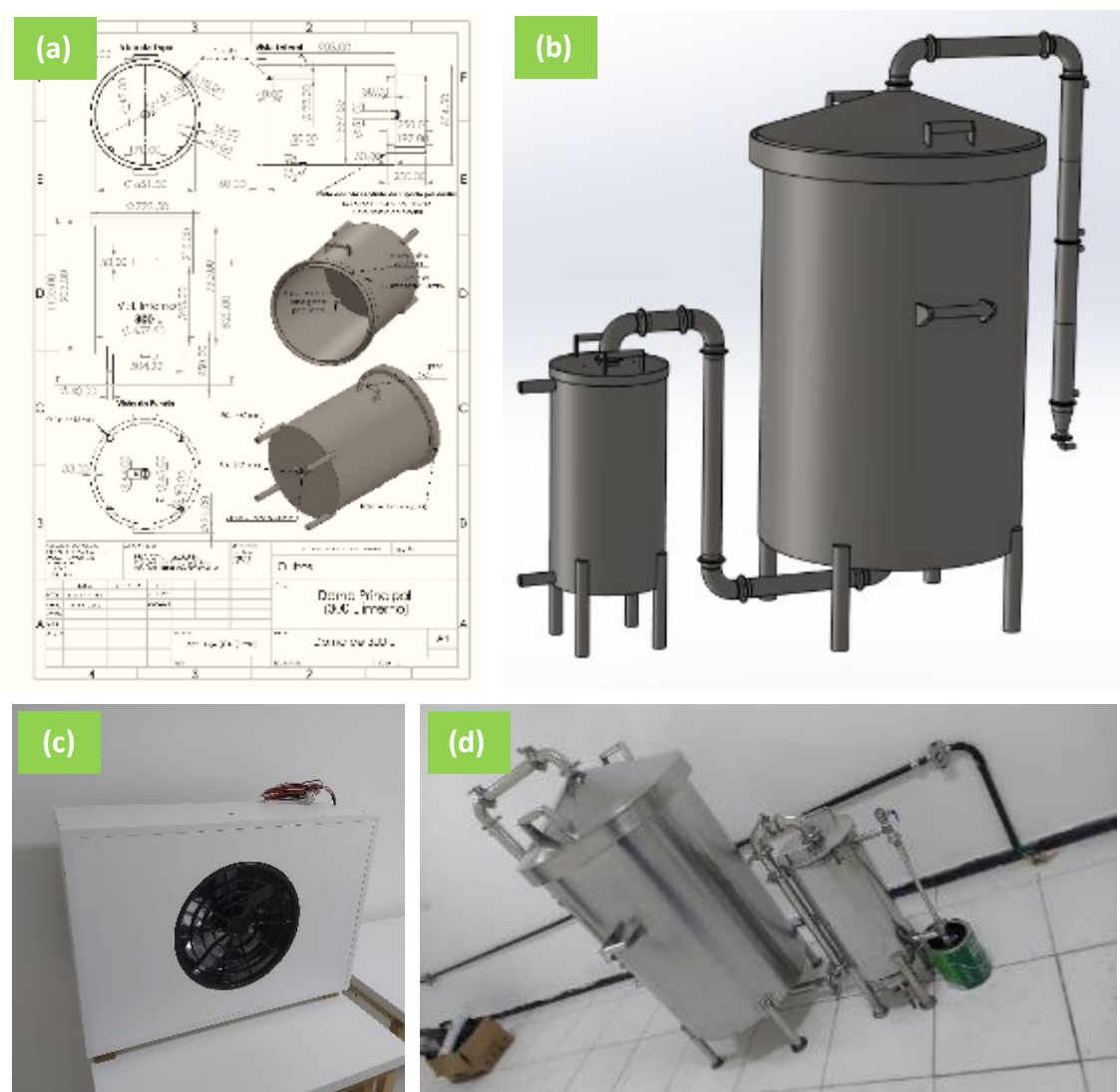


Figura 6. Representação do plano de construção do destilador por arraste a vapor (INSYGRO VIPER-I). (a) primeiro esboço da dorna de destilação; (b) modelo 3D do equipamento fabricado. (c) Sistema de refrigeração da coluna de condensação também projetado pela equipa técnica da INSYGRO. (d) projeto entregue nos alojamentos da INSYGRO.

2.2.4. Preparo da formulação e avaliações continuadas do produto

Vale ressaltar que os extratos foram dissolvidos em soluções apropriadas após testes com vários produtos e ordens de adição, visando a otimização do potencial de controle do produto contra os patógenos

identificados na mandioca. Vale ressaltar que a formulação e modo de preparo do nosso produto, assim como a descrição detalhada do designer e processo de funcionamento do equipamento denominado “**INSYGRO VIPER-I**” são segredos industriais e parte desse conhecimento foi redigida em relatório de patente e, atualmente, está em tramitação no processo submetido (**BR 20 2025 009552 7**) ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI) com auxílio de assessoria de empresa contratada especializada no assunto, a Recife Patentes.

Em linhas gerais, inicialmente, o produto foi fabricado a partir de duas fases: uma formulação hidrofóbica - para diluição dos óleos essenciais e dos demais produtos/reagentes oleosos; e outra formulação hidrofílica – para diluição dos hidrolatos e soluções a base de água, álcoois e outros. Para obtenção do produto comercial, de modo geral, as fases são misturadas e combinadas com outros ingredientes, incluindo: surfactantes para melhorar a aderência do produto às plantas; estabilizantes para prolongar a vida útil do produto. A elaboração do produto envolveu o uso de micronutrientes de plantas na forma de fertilizantes reconhecidamente seguros par ao uso pretendido, visando uma solução mista ou organomineral, se preocupando em listar a proporção destes no rótulo. O produto foi testado em condições *in vitro* e *in vivo* em diferentes dosagens. Este último envolveu aplicação em plantas de mandioca em ambiente controlado (em vasos e em campo), baseado em protocolos de cultivos já estabelecidos, com materiais sendo armazenados em condições adequadas para preservar sua eficácia, segurança e vida útil de prateleira (também sendo avaliadas). Vale destacar também que o teste de “*shelf life*” foi aplicado em condições de laboratório com o produto armazenado em temperatura elevada (40 °C em estufa) durante 90 dias para simular degradação a longo prazo e permitir a análise da estabilidade do produto, não demonstrando alterações significativas em suas propriedades originais. Esses resultados são preliminares, tendo em vista a curta vigência relativa deste projeto de desenvolvimento de produto, sendo uma etapa será continuada visando avaliações sucessivas do produto em condições *in vitro* e *in vivo*, incluindo melhorias a formulação.

2.2.5. Confirmação da eficácia contra isolados patogênicos da região (*in vitro*)

Essa etapa foi fundamental para a economia de recursos e planejamento da utilização posterior do produto em condições de campo. O produto foi testado *in vitro* contra *C. gloeosporioides* e o isolado de *Fusarium* spp., principais patógenos da mandioca isolados de plantas com sintomas claros em São João, PE. Os ensaios ocorreram nas dependências do Laboratório de Biotecnologia da **INSYGRO** em Garanhuns, PE, seguindo protocolos padrão de avaliação da atividade antifúngica *in vitro* (CARVALHO et al., 2022). Medições diárias do diâmetro das colônias, cultivadas em meio BDA em placas de Petri de 80 mm foram feitas com auxílio de paquímetro, testando a eficácia do produto. As avaliações normalmente aconteceram quando a testemunha absoluta atingiu 100% do seu crescimento micelial na placa.

2.2.6. Análises estatísticas dos resultados

As análises estatísticas foram realizadas para validar os resultados deste projeto, fazendo uso da plataforma computacional R (v.4.4.0; R Core Team, 2023) com o ambiente integrado RStudio (v.2023.06.1; RStudio Team, 2023). Todos os dados de crescimento/desenvolvimento de patógenos *in vitro* ou *in vivo*

(quando aplicável) foram analisados de acordo com modelos matemáticos de regressão baseados na equação de Gompertz modificada (Fincheira et al., 2023), seguindo com a estatística de médias marginais estimadas (EMMs) dos coeficientes de cada tratamento, calculadas utilizando o pacote 'emmeans' (v.1.10.5). Comparações múltiplas entre tratamentos foram realizadas com o método de Sidak para ajuste do erro tipo I. Diferenças significativas ($p\text{-value} < 5\%$) foram representadas por letras minúsculas distintas, geradas pela função "cld" do pacote 'multcomp' (v.1.4-26), onde tratamentos que compartilham a mesma letra não diferiram estatisticamente. Os dados bromatológicos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste post-hoc LSD (Least Significant Difference) de Fisher.

2.2.7. Dificuldades prévias enfrentadas

IMPORTANTE destacar também que dentre as principais dificuldades para realização deste projeto está o **ATRASO PARA A ENTREGA DO EQUIPAMENTO (DESTILADOR) POR PARTE DO FABRICANTE**. Como apresentado no primeiro seminário dos projetos aprovados no edital COMPET-Soluções, em função da assinatura do Termo de Outorga, o modelo do destilador já estava definido e o equipamento foi solicitado já no mês de maio como a contrapartida obrigatória. O mesmo só foi entregue por volta de setembro, prejudicando nossos planos de obter extratos vegetais para nosso processo de fabricação desde o início da vigência deste projeto. No entanto, procuramos adiantar outras etapas, como as coletas de materiais e isolamentos de fungos. Outros equipamentos previstos no projeto, como a estufa de secagem, fundamental para secagem de materiais, reagentes e de utensílios de laboratório; e a capela de exaustão, importante para o controle dos gases liberados por produtos químicos e pelos extratos vegetais não foram entregues no prazo combinado com os fornecedores, levando a nossa empresa a se adequar da melhor forma possível ao cronograma.

Outra situação está relacionada ao período de vigência e ao cronograma regulares deste projeto, pois as cobranças deste projeto e sua curta duração (12 meses) não permitiram abranger todas as etapas relacionadas as tramitações de desenvolvimento do produto em questão. Incluindo mais resultados contundentes sobre a eficácia do produto em campo e em diferentes culturas. Isso se justifica pelo fato de que as principais doenças da mandioca (especialmente a antracnose) são agravadas no período das chuvas, que na região do projeto ocorre entre os meses de abril e julho. Inclusive, no presente momento (abril), relatamos que as precipitações esperadas estão em atraso na Região Agreste de PE. Contudo, planejamos obter melhores relatos de campo durante a utilização de nosso produto nos próximos meses, durante incidência de chuvas e aparecimento de sintomas de antracnoses e fusarioses nos cultivos de mandioca.

Apesar dos imprevistos, ressaltamos que a INSYGRO agiu com firmeza, agilidade e responsabilidade, apresentando a contrapartida financeira com antecedência e gerando as bases necessárias para prosseguir com as etapas de registros e fabricação do produto junto aos órgãos competentes (INPI, MAPA e outros), buscando a viabilidade da sua comercialização o quanto antes possível. Destacamos acreditar no cumprimento de todas as metas pactuadas, indo além do esperado para esse período, lembrando que o objetivo original do projeto foi **“desenvolver produto e processo para auxiliar no controle biológico dos principais patógenos que causam severos prejuízos fitossanitários e econômicos na cultura da mandioca”**. Como demonstrado a seguir, isso foi cumprido e já estamos preparando a sua comercialização.

3. RESULTADOS OBTIDOS

3.1. Identificação das principais doenças da mandioca na região

De acordo com a análise conjunta das sequências dos genes ITS1 e RPB2, o isolado **D1** apresentou alta similaridade com as espécies *Pestalotiopsis kenya* enquanto o isolado **D2** confirmou alta similaridade com *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causador da antracnose na mandioca (**Figura 7**). O isolado D3 apresentou similaridades com *F. caatingaense* nas duas sequências gênicas, além de se aproximar globalmente de *F. irregulare* e de *F. equiseti*. O isolado **D4** se associou mais a espécie *Nigrospora sphaerica*. Estas identificações foram fundamentais para se avaliar com precisão os efeitos no nosso produto sobre os patógenos corretos que tem prejudicado significativamente os cultivos de mandioca da região Agreste, além da cultura do feijão, igualmente importante. Em síntese, a classificação taxonômica não apenas confirmou a identidade dos patógenos, mas também forneceu bases para ações práticas de mitigação, reconhecendo os mecanismos de propagação destes patógenos e alinhando ciência, agricultura e necessidades locais.

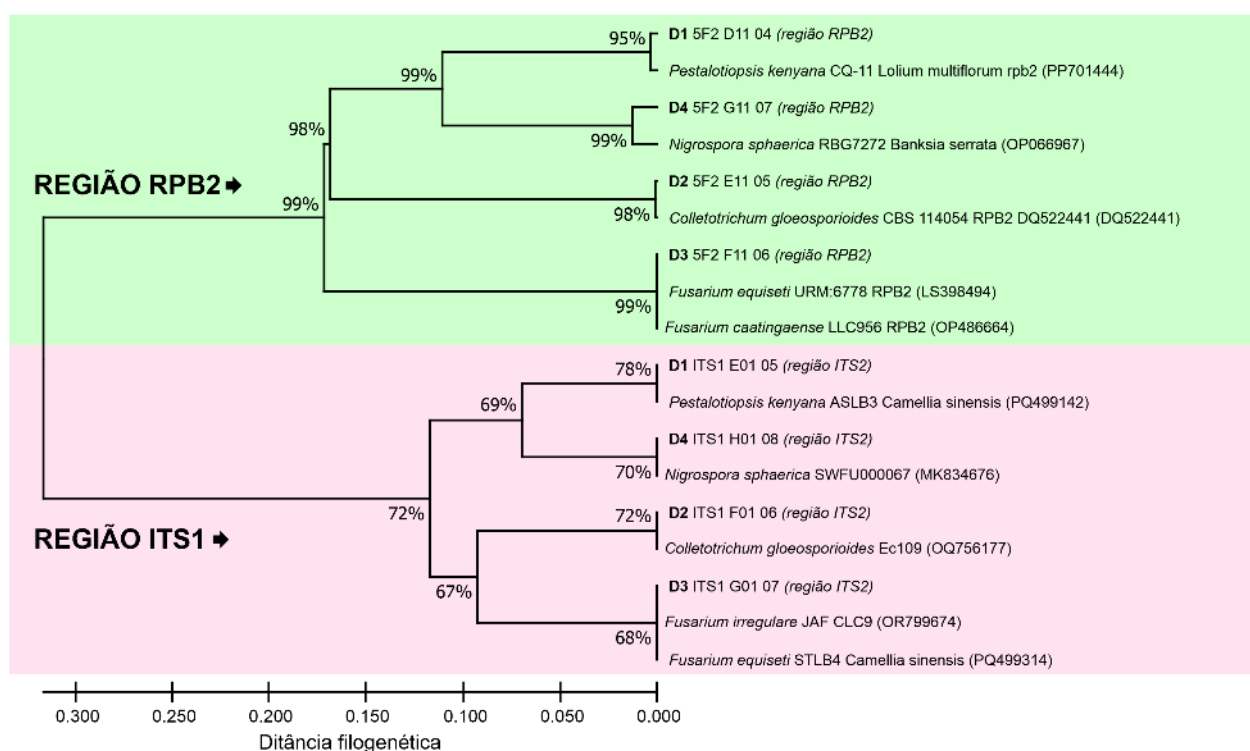


Figura 7. Árvore de classificação filogenética dos isolados fúngicos obtidos a partir de plantas de mandioca com sintomas de podridão e antracnose em sítio do município de São João, PE. As bibliotecas genômicas foram construídas com base em duas regiões gênicas importantes (RPB2 e ITS1), através das quais foram observadas associações de alta similaridade com os principais fungos fitopatogênicos da mandioca, de acordo com comparações do tipo “blast” com sequências do banco de dados internacional do NCBI.

A identificação dos isolados fúngicos associados à mandioca no Agreste de Pernambuco como *Pestalotiopsis* sp. (D1), *Colletotrichum* sp. (D2), *Fusarium* sp. (D3) e *Nigrospora* sp. (D4) foi crucial por

múltiplos motivos: **(1) Implicações fitopatológicas:** *Colletotrichum* e *Fusarium* são gêneros amplamente reconhecidos por causarem doenças devastadoras em cultivos, como antracnose e murchas, respectivamente. Sua presença na região alerta para riscos à produtividade da mandioca, base alimentar e economia local. *Pestalotiopsis* e *Nigrospora*, embora menos estudados em mandioca, podem atuar como patógenos secundários ou endófitos, influenciando a saúde da planta sob condições ambientais específicas. **(2) Estratégias de manejo direcionadas:** A classificação precisa permitiu desenvolver um produto de controle (fungicidas ou biocontrolador) mais específico e direcional que segue o monitoramento da emergência e resistência de fungos de alto impacto para culturas em geral, especialmente *Colletotrichum* spp. e *Fusarium* spp. **(3) Contexto regional e sustentabilidade:** O Agreste de Pernambuco enfrenta desafios climáticos e socioeconômicos que amplificam os danos causados por patógenos. Identificar esses grupos auxiliou na proteção de pequenos produtores, reduzindo perdas e garantindo segurança alimentar. **Contribuição científica:** A associação com bancos de dados (NCBI) validou a diversidade fúngica local e abriu caminho para estudos comparativos com isolados de outras regiões, elucidando padrões evolutivos ou de dispersão.

3.2. Construção e desenvolvimento de equipamento/técnica de extração

Quanto aos resultados relacionados ao processo de obtenção dos extratos, vale destacar que nosso equipamento (**VIPER-I**) apresentou características únicas e foi otimizado para melhor aproveitamento do calor gerado e redução o tempo de destilação (**Figuras 8a-b**). Para fins de comparação, é comum uma dorna de destilação desse porte demorar cerca de 1 h ou mais para aquecer todo material em seu interior (~85 °C ou mais) para então iniciar o processo de destilação (**Figura 8c**), resultando nas primeiras gotas de extrato no final da coluna de condensação (**Figura 8d**). Devido ao aquecimento rápido da caldeira com exclusiva proteção térmica, o **VIPER-I** ferve a água em cerca de 40 minutos, apresentando aquecimento da tampa superior da dorna, preenchida com material vegetal (**Figura 8e**), poucos minutos após a vaporização. A seguir, o processo de condensação do hidrolato inicia em menos de 20 minutos, graças a proteção térmica nas laterais da dorna de destilação (detalhes vetados ao relatório de patente do produto), gerando em poucos minutos as fases hidrofóbicas (óleos essenciais) e hidrofílicas (hidrolatos) utilizados como componentes principais na formulação do produto INSYGRO pretendido (**Figura 8f**).

O **VIPER-I**, permitiu uma alta produção relativa de hidrolato há uma taxa de cerca de 0,9 L por hora de destilação com baixa condensação no fundo da dorna. Além disso, utilizando folhas de velame para exemplificar, uma das espécies com menor rendimento relativo de extratos voláteis, o rendimento de óleos extraíveis por arraste a vapor foi de cerca de 0,12% (m:m) ou de 0,14% (v:m), utilizando folhas ainda frescas, gerando óleo com uma densidade de ~0,83-0,85 g mL⁻¹, além de hidrolato em abundância, materiais suficientes para elaboração do produto INSYGRO (**Figuras 8 e 9**). Resultando de várias otimizações, após um processo de 3-4 horas de vaporização, puderam ser obtidas no VIPER-I os volumes de cerca de 4-5 L de hidrolato e 40-50 mL (33,5 a 42,0 g) de óleo essencial a partir de aproximadamente 28 a 30 kg de material desidratado de *Croton* spp., o que representou rendimentos entre 0,11% e 0,15% (m:m) ou 0,13% e 0,15% (v:m – mL g⁻¹). Esse rendimento pode ser considerado satisfatório, uma vez que está no intervalo descrito na literatura para as espécies do gênero *Croton*, que está entre 0,05% e 3,15% (FERNANDES, 2016). No geral,

o rendimento do **VIPER-I** se mostrou superior a muitos relatados na literatura para extração de óleos de *Croton* spp., como no trabalho relatado por Torres et al. (2021), onde obteve um rendimento de apenas 0,12% (v:m – mL g⁻¹) a partir da extração com *C. heliotropiifolius*, mesmo este processo sendo realizado em ambiente controlado e laboratório e em sistema fechado em aparelho de Clevenger, o que reforça o sucesso do nosso equipamento.



Figura 8. Descrição do processo geral de produção do vapor de água, destilação e extração de compostos bioativos de materiais vegetais. (a) Início da fervura na caldeira. (b) Verificação da temperatura na saída de vapor. (c) Saída de vapor na dorna de destilação; (d) processo de condensação na tubulação do sistema de condensação. (e) Ramos e folhas de material desidratado (*Croton* sp.) em dorna de destilação. (f) Funil de separação, demonstrando os dois principais produtos do processo de destilação, o hidrolato (fase de baixo) e o óleo essencial (fase de cima). Durante este processo, o material foi seco por cerca de sete dias sob sombra e temperatura ambiente. Fotografias: INSYGRO.

Resumindo a importância dessa invenção, em comparação com destiladores convencionais, o VIPER-I reduz o tempo de processo em 50–60% enquanto mantém rendimentos compatíveis com a literatura para espécies de *Croton* spp. de baixo rendimento intrínseco (FERNANDES et al., 2016; TORRES et al., 2021). Além disso, nossos resultados apontaram que a partir de 3-5 h do processo de vaporização, não são obtidas quantidades significativas de óleos essenciais, havendo um desperdício energético considerável, estando de acordo com o que foi demonstrado por Barros e colaboradores (2018), extraindo de *C. adamantinus* por hidrodestilação em Clevenger; e de acordo com Luz (2022), extraindo de *C. heliotropiifolius*. Adicionalmente, a proteção térmica das laterais da dorna – “segredo industrial” – minimiza perdas de compostos voláteis, um desafio comum em equipamentos sem isolamento, considerando que no ambiente

laboratorial os materiais geralmente são pré-tratados, ocasionando o aumento da eficiência (Busato et al., 2014). Essa otimização é crítica para espécies como *Croton* spp., cujos óleos essenciais são ricos em sesquiterpenos termolábeis (ex.: biciclogermacreno, E-cariofileno) (Silva, 2020; Souza et al., 2017).

Ainda como resultado do processamento no VIPER-I, além dos extratos em fases líquidas (**Figura 9a**), uma considerável quantidade de resíduo orgânico é gerada, podendo ser integralmente retornado à agricultura através de, por exemplo, aplicação direta, após processo de compostagem ou fabricação de biochar, sendo posteriormente aplicado nas culturas em geral como fertilizante orgânico (**Figura 9b**). Esse processo se mostrou vantajoso, pois acelera o processo de decomposição dos resíduos orgânicos e, consequentemente, a entrada de carbono e nutrientes no solo. Geralmente, o óleo essencial se apresentou como uma substância de baixa viscosidade na parte superior do hidrolato condensado, com coloração variando entre transparente e levemente amarelada (**Figura 9c**). No caso da utilização do óleo, foram necessárias formulações prévias em solventes e surfactantes apropriados (**Figura 9d**) para promover a sua diluição em meio aquoso (**Figura 9e**), permitindo o envase, estabilização do produto comercial (**Figura 9f**) e o sua avaliação em ambiente controlado (**Figura 9g**) e/ou no campo de produção comercial (**Figura 9h**).

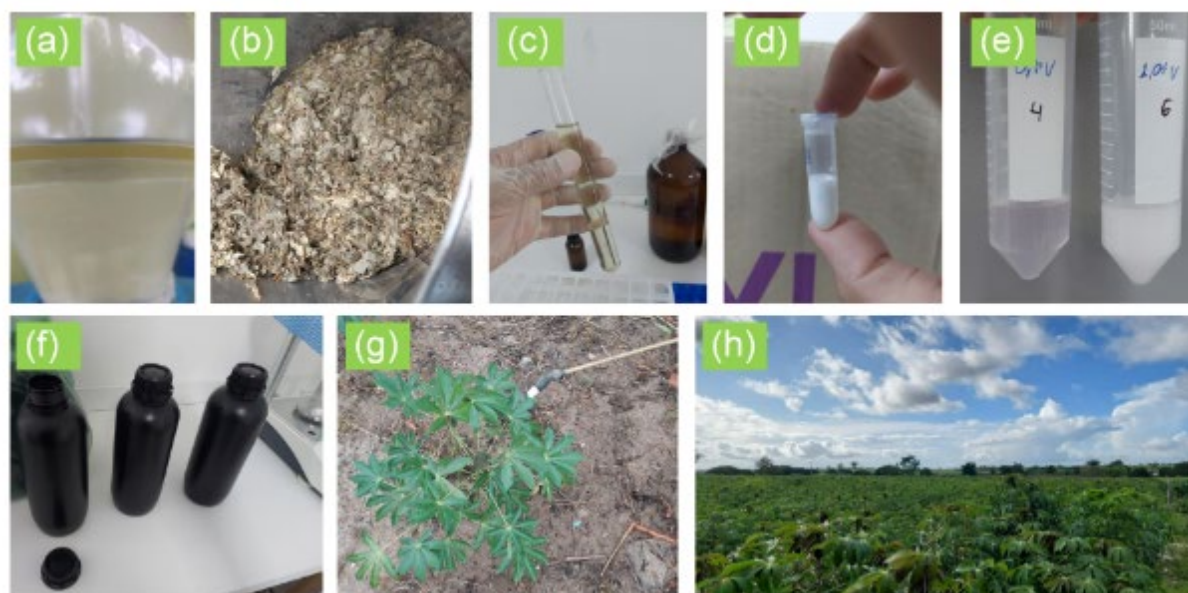


Figura 9. Resumo do processo de produção e utilização do produto FertExtrat após obtenção de matérias primas a partir do processo de destilação por arraste a vapor no VIPER-I. (a) obtenção de óleo essencial e hidrolato; (b) resíduo vegetal obtido após a destilação; (c) óleo essencial (tubo de ensaio) e hidrolato (frasco âmbar) para testes de formulações; (d) obtenção de formulação concentrada; (e) testes de diluições em meio aquoso e adição de adjuvantes e estabilizantes; (f) envasamento e rotulagem; ensaios laboratoriais e/ou aplicações em ambiente controlado; (g) aplicações do produto definitivo em campo em dosagens predefinidas em etapa anterior.

Ainda vale destacar que esta é uma breve apresentação do processo de destilação do **VIPER-I** e que este pode ser ainda mais otimizado. Além de determinar o tempo e umidade ótimos de secagem dos materiais, técnicas de manejo das plantas podem ser otimizada para incrementar as concentrações de óleos essenciais e de compostos bioativos específicos nos tecidos das plantas. Outra atualização seria o acoplamento de uma coluna contendo solventes na saída do condensador, permitindo uma maior captura de óleos essenciais ainda vaporizados, ampliando ainda mais a eficiência do processo.

3.3. Registros e regulamentações legais do produto e da empresa

Importante destacar novamente que as atividades deste projeto COMPET Soluções permitiram o desenvolvimento da **Patente de Invenção (PI)** que está em tramitação no INPI (**BR 20 2025 009552 7**), além do segredo industrial do protótipo **VIPER-I**, visando a proteção da propriedade intelectual, estando de acordo com o planejamento descrito no cronograma – **(8) Desenvolvimento de produtos, processos e patentes**. Devido ao caráter de urgência no combate as doenças relacionadas a mandioca, carente de produtos eficazes no controle dos agentes patogênicos mencionados, além da importância desta cultura para a agricultura familiar, a alternativa mais viável e rápida foi a elaboração de um **produto organomineral** enquadrado na categoria de **fertilizante foliar no estado líquido**. Para tanto, para escolha dos extratos vegetais e preparo da formulação foram observadas de acordo com as disposições de regulamentação de produtos organominerais prevista na Lei nº 6.894, de 16 de dezembro de 1980, que dispõe sobre a fiscalização e inspeção de fertilizantes, corretivos, inoculantes, estimulantes e biofertilizantes, além das Instruções Normativas SDA/MAPA 25/2009, No 61 de 2020 e outras disposições legais. Esse processo está sendo assessorado juntamente com a empresa “Regulariza Certo Serviços Empresariais Ltda”, parceria apresentada e autorizada pela Diretoria/Unidade de Inovação da FACEPE, sendo classificada em parecer com uma iniciativa “estratégica e recomendável” para os objetivos deste projeto. De modo semelhante, associado a mesma solicitação, outra parceria igualmente relevante com a empresa local “Mb Protege Extintores” ofereceu assessoria estratégica para adequação do espaço de trabalho e de todas as atividades relacionadas ao ambiente de produção, incluindo todo auxílio com relação a adequações preconizadas pelo Corpo de Bombeiros e pelos órgãos ambientais (IBAMA). Essas regulamentações corroboraram os objetivos preconizados nas etapas de “Desenvolvimento de produtos, processos e patente” (8) e (9) “Avaliação da sustentabilidade do produto” (9), de acordo com o cronograma, tendo em vista os parâmetros técnicos e financeiros dispostos no relatório da patente.

Vale destacar que de acordo com as pesquisas feitas nos bancos de dados do INPI e nos órgãos internacionais US-PGPUB, USPA e USOCR, através da plataforma <https://ppubs.uspto.gov/>, não foi encontrado nenhum registro fazendo menção ao uso de *C. heliotropiifolius* ou *C. campestris* para a mesma finalidade deste projeto, abrindo margem para uma invenção inovadora baseada em um recurso natural abundante e facilmente propagável em terras produtivas do Agreste-PE. No geral, foi observado que existem relativamente poucas patentes sobre o uso de extratos naturais para enfrentamento dessas pragas, em comparação com os registros de produtos químicos sintéticos altamente tóxicos para o meio ambiente.

3.4. Testes de eficiência do produto

Ainda é relevante mencionar que para o desenvolvimento deste produto, vários extratos vegetais foram testados em sua composição, nos quais foram analisadas as taxas médias de crescimento de diversos fungos fitopatogênicos ao longo do tempo (**Figura 10**). O produto codificado como E02_0.25 foi superior a todos os demais, inclusive com relação a produtos já consolidados no mercado, denominado pelo prefixo COM na figura abaixo. Esse produto piloto foi utilizado como base para o desenvolvimento do produto definitivo, passando por várias avaliações em ambiente controlado (*in vitro*), reformulações e testes em

plantas infectadas (*in vivo*), incluindo a mandioca e o feijão. Futuramente serão realizados testes para variedades de milho (focando na agricultura regional) e de soja, focando em unidades produtivas do Oeste do estado da Bahia, onde existem parceiros da INSYGRO dispostos a desenvolver a parceria, como será mencionado mais adiante.

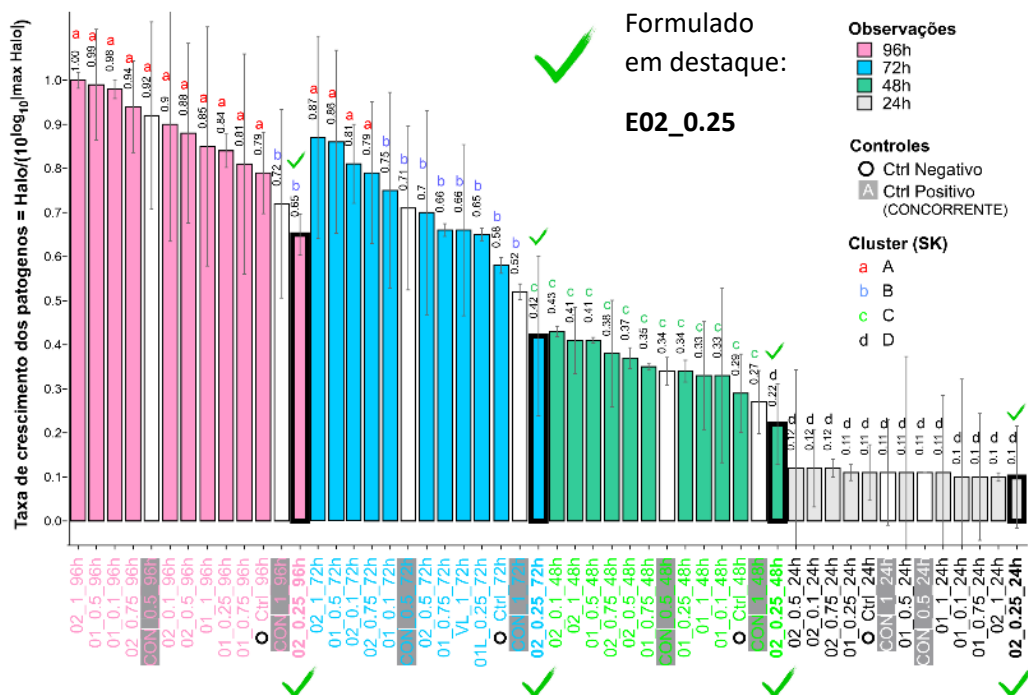


Figura 10. Avaliação do controle de crescimento de hifas fúngicas. Barras representam o potencial de crescimento médio em um determinado tempo, quanto menor a barra, mais eficaz foi o controle. Médias seguidas por distintas letras diferiram significativamente de acordo com o teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Destacando os resultados mais relevantes do nosso produto, agora denominado de FertExtrat, a utilização de sua formulação na concentração de apenas 0,1% do extrato de *Croton* sp. inibiu em 38% (**Figura 11a-b**) o crescimento micelial de diversos fungos (*in vitro*), incluindo as quatro espécies isoladas e identificadas na mandioca (*Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium* sp., *Pestalotiopsis keniana* e *Nigrospora sphaerica*) juntamente com um isolado de *Sclerotinia sclerotiorum*, agente causal do mofo branco em importantes culturas como bóbora, alface, algodão, amendoim, batata, berinjela, canola, ervilha, feijão, girassol, hortaliças, melancia, melão, pepino, soja e tomate (AGROLINK, 2025), relevante a grande importância de se incluir este patógeno como alvo de controle utilizando o FertExtrat.

Continuando com o relato dos efeitos promissores do INSYGRO FertExtrat, observando sua atuação sobre o patógeno *Colletotrichum gloeosporioides* (**Figura 11c-d**), principal alvo deste projeto, um resultado ainda mais relevante foi alcançado. O FertExtrat reduziu em 73% (em média) o crescimento micelial deste patógeno em uma concentração de apenas 0,1%, sendo o resultado mais promissor dentre os patógenos testados. Isso revela a competitividade no FertExtrat com relação ao seu potencial de controle da doença denominada de mofo branco.

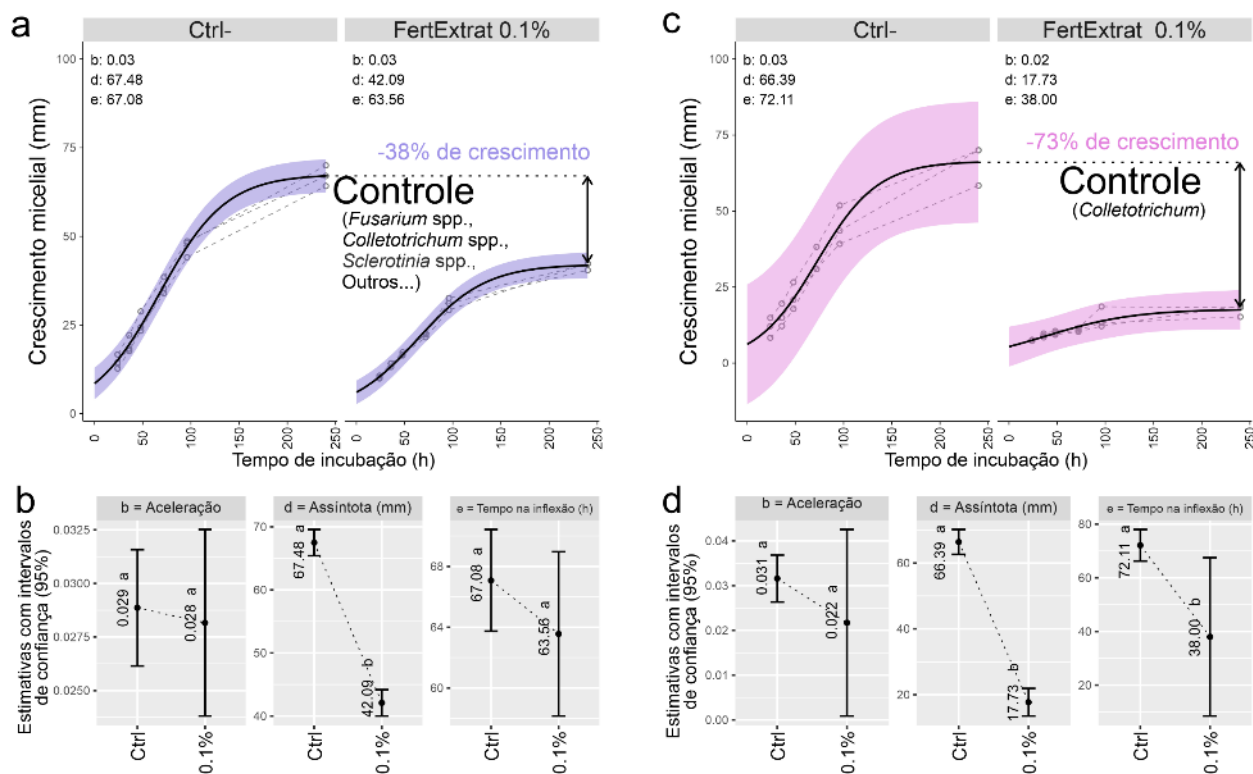


Figura 11. Crescimento de patógenos isolados de plantas de mandioca com sintomas claros de antracnoses (*Colletotrichum gloeosporioides*) e fusarioses (*Fusarium* sp.), além de mofo branco no feijão (*Sclerotinia sclerotiorum*) sem (Ctrl-) e com o “produto INSYGRO” em concentração reduzida (OE 0.1%) durante dez dias (240 h) de incubação *in vitro*. Curvas de regressão (a1 e b1), baseadas na função de Gompertz, demonstrando a evolução do halo de espécies de fungos fitopatogênicos de mandioca (*C. gloeosporioides*, *Fusarium* sp., *Pestalotiopsis keniana* e *Nigrospora sphaerica*) e feijão (*S. sclerotiorum*) em meio BDA. Os círculos ligados por linhas tracejadas indicam as repetições, a linha preta contínua representa o modelo de Gompertz justado e a região sombreada em lilás indica o intervalo de confiança (95%). (a2 e b2): Estatísticas dos três coeficientes da equação de Gompertz, onde os pontos centrais indicam as médias e os tracejados contínuos verticais são os desvios-padrão. Tratamentos que não compartilham as mesmas letras minúsculas diferiram significativamente ($p < 0,05$) de acordo com contrastes de médias marginais estimadas dos tratamentos (EMMs), agrupadas com base nos intervalos de confiança ajustados pelo método de Sidak. Intervalos de avaliação: 24, 36, 48, 72, 96, e 240 horas. No geral, quanto menor a posição dos marcadores (círculos) com relação ao eixo das ordenadas (vertical), maior o controle do tratamento sobre o coeficiente analisado.

Com relação a dosagem inibitória mínima (ou concentração inibitória mínima, CIM) do produto contra *C. gloeosporioides* e *Fusarium* sp. (Figuras 12a-b), foi verificada sua máxima eficiência a partir da concentração de 2% (Figuras 12c-d), não havendo indícios claros de queima ou intoxicação nas plantas em formulações simples (Figura 14h). Nessas condições, o produto foi eficiente em inibir completamente o crescimento dos fungos, mesmo após 168 h para *Colletotrichum* (Figura 12c) e 144 h para *Fusarium* (Figura 12d).

Após o período de observações (sete dias), a continuidade das observações das unidades experimentais revelou os fungos continuaram ativos e tomando todo o meio de crescimento (Figuras 13a-b) enquanto a grande maioria das placas (>95%) tratadas com FertExtrat não apresentou qualquer crescimento com o produto a 2% (Figuras 13c-d), comprovando definitivamente o seu potencial de controlar e até mesmo exterminar por completo os propágulos fúngicos, principalmente de *C. gloeosporioides*.

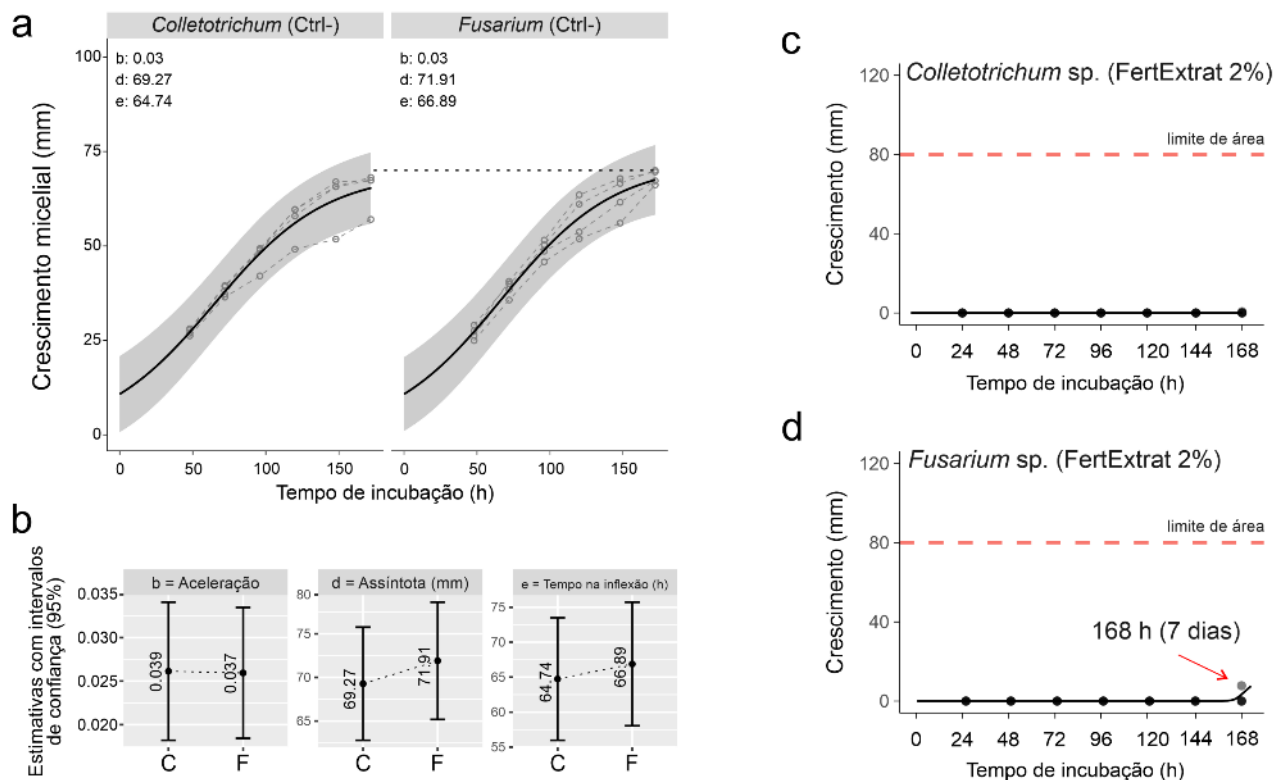


Figura 12. Crescimento de *C. gloeosporioides* e *Fusarium* sp. isolados de plantas infectadas cultivadas na cidade de São João sem (Ctrl-) e com o “produto INSYGRO” em concentração altamente inibitória (OE 2%) durante dez dias (240 h) de incubação *in vitro*. Curvas de regressão (a), baseadas da função de Gompertz, demonstrando a evolução do halo dos patógenos em meio BDA na ausência do produto INSYGRO. Os círculos ligados por linhas tracejadas indicam as repetições, a linha preta contínua representa o modelo de Gompertz justado e a região sombreada em lilás indica o intervalo de confiança (95%). (b): Estatísticas dos três coeficientes da equação de Gompertz, onde os pontos centrais indicam as médias e os tracejados contínuos verticais são os desvios-padrão. De acordo com contrastes de médias marginais estimadas dos tratamentos (EMMs) não houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os patógenos quanto aos parâmetros de crescimento. (c-d): Observações dos patógenos em ambiente contendo dosagem inibitória otimizada do produto INSYGRO, demonstrando total controle do crescimento de *C. gloeosporioides* e *Fusarium* sp. durante os primeiros sete dias (168 h). Intervalos de avaliação: 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas. No geral, quanto menor a posição dos marcadores (círculos) com relação ao eixo das ordenadas (vertical), maior o controle do tratamento sobre o coeficiente analisado.

O INSYGRO FertExtrat também foi avaliado em protocolo em campo experimental em Brejão, cultivado com a variedade de mandioca “Sambaqui”, propagada através de manivas sementes adquiridas em propriedades do município de São Joao, PE. Na propriedade, após cerca de 6-7 meses após o plantio, houve ocorrência natural de antracnose, se destacando de outras doenças (Figuras 14a-d). Parte das parcelas de cultivo foram preventivamente tratadas com FertExtrat, aplicado por aspersão na parte aérea via pulverizador costal de 50 L de capacidade com diluições variando entre 1:50 e 1:100. Nessas condições, o produto apresentou ótimas dispersão de gotas (espalhamento) e adesão nas folhas (Figuras 14e-g) em comparação com folhas molhadas apenas com água limpa (Figura 14h), onde as gotas são facilmente repelidas devido à predominância hidrofóbica da superfície das folhas de mandioca. Esse comportamento pode ser explicado pela composição das ceras cuticulares da mandioca, que, segundo Zinsou et al. (2006), são ricas em triterpenos e contêm menores quantidades de alcanos e ácidos carboxílicos. Tal constituição confere à folha uma elevada hidrofobicidade, dificultando o espalhamento uniforme da água durante a pulverização. Além

disso, o levantamento da presença de sintomas de doenças nas plantas demonstrou que cerca de **70%** das plantas não tratadas (controle negativo) com FertExtrat apresentaram apodrecimento das gemas (**Figuras 15 a-d**) contra apenas **15%** das plantas tratadas com o produto 45 dias após o início de aplicações quinzenais, revelando sua eficiência em campo.

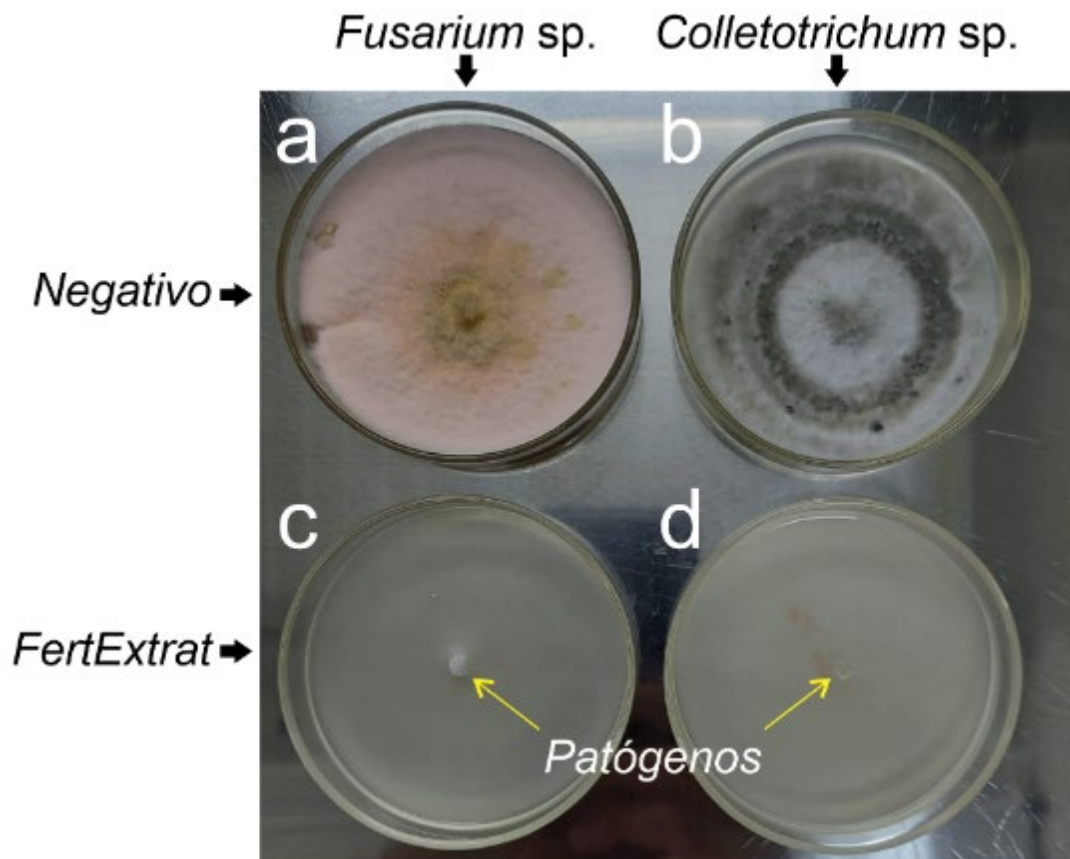


Figura 13. Exemplos de placas com os principais patógenos isolados de plantas de mandioca em área de cultivo do município de São João, PE. A esquerda estão as placas inoculadas com o isolado *Fusarium* sp. sem (a) e com (c) o tratamento com o produto FertExtrat na concentração de apenas 2%. A direita estão as placas inoculadas com o isolado *Colletotrichum* sp com e sem o FertExtrat a 2%. As fotografias foram registradas **após os 15 dias** de inoculação, comprovando a eficácia do produto in vitro mesmo em baixa concentração.

Essas características e resultados demonstraram que a formulação do FertExtrat não apenas promoveu o controle dos fitopatógenos-alvo, mas também apresentou características altamente desejáveis para o maior tempo de contato do produto na superfície das folhas, promovendo sua absorção e/ou maior tempo de contato com hifas e esporos dos fungos, garantindo sua eficácia. Esses resultados corroboraram o cumprimento da etapa 6 do cronograma (obtenção de mudas e protocolos em campo).



Figura 14. Protocolo de aplicação do produto FertExtrat em campo experimental. Um experimento foi feito para avaliar a eficácia do produto em campo experimental de mandioca com cerca de 6 meses de idade em Brejão-PE, onde foram verificadas incidência natural de antracnose e outras doenças (a-d). O produto foi aplicado com pulverizador costal na proporção de 1 L do produto para 50 L de água, apresentando ótimos resultados quanto a adesão e espalhamento nas folhas, mesmo após alguns minutos (e-g). Planta após alguns minutos de pulverização com água limpa (h), evidenciando a necessidade.

3.5. Apoio e parcerias em novas pesquisas

Mencionado anteriormente, paralelamente aos resultados obtidos diretamente com o projeto do COMPET Soluções, a INSYGRO apoiou a pesquisa intitulada **“Bioprospecção de óleos essenciais de plantas do Semiárido no manejo de *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura do feijão”** concedendo extratos de plantas, isolado fúngico e orientação na condução da dissertação (Mestrado), um estudo em parceria com a Profa. Dra. Kedma Maria Silva Pinto, docente da UFAPE e colaboradora deste projeto (COMPET Soluções). Este trabalho comprovou a eficácia do uso de óleos essenciais de *Croton* sp. e de *Schinus terebinthifolia* (aroeira-rosa) no controle deste fitopatógeno, tanto em condições *in vitro* quanto em condições controladas em casa de vegetação (*in vivo*) utilizando plantas pré-traçadas com formulações baseadas em OEs e posteriormente infectadas com *S. sclerotiorum* (Figura 15). Diante desse feito, a INSYGRO destaca o seu compromisso com a pesquisa acadêmica de base, ressaltando a importância de novas descobertas naturais para auxiliar no controle de fitopatógenos diversos e minimizar os impactos ambientais causados por produtos químicos sintéticos altamente nocivos para o meio ambiente, diferente do **INSYGRO FertExtrat**. Também firmamos o nosso interesse em captar tecnologias pesquisadas nas instituições em geral e firmar parcerias para lançar novos produtos no mercado, prática difícil de ser realizada em Universidades. Neste sentido, o apoio dos recursos do COMPET Soluções foi fundamental, pois permitiu a estruturação da INSYGRO como um todo, elevando a empresa para um patamar mais competitivo no mercado regional, visando alavancar sua atuação para outras regiões e estados, além de permitir a busca e o desenvolvimento de novos produtos que possam ser mais sustentáveis e aplicáveis para culturas vegetais em geral. Esta parceria também irá

beneficiar a COOPAF, tendo em vista que seu município sede, São João (PE), também lidera a produção desta cultura no estado.



Figura 15. Etapa de experimento auxiliado na UFAPE pela INSYGRO para desenvolvimento de novos produtos para controle do mofo-branco do feijoeiro (*S. sclerotiorum*). O mofo-branco é uma das principais doenças do feijoeiro na região, sendo a realização de pesquisas sobre produtos potenciais para uso na cultura.

O fato mais relevante deste estudo juntamente com experimento feito separadamente pela INSYGRO é que utilizando apenas o óleo essencial de *Croton* sp. a 2% com poucos adjuvantes (antes da formulação definitiva do FertExtrat), para promover sua mistura na fase hidrofílica, foi possível reduzir em média até 55% a área de lesões foliares causadas por *S. sclerotiorum* em plantas de feijão infectadas (**Figura 16a-d**). Contra o esperado, outro fato relevante observado nestes mesmos experimentos demonstrou que o produto concorrente (baseado na aplicação de Procimidona $0,75 \mu\text{g mL}^{-1}$) apresentou os piores resultados (mesmo com relação ao controle negativo/absoluto), no qual a área lesionada média nas folhas foi 75% maior que a de plantas tratadas com óleo de *Croton* sp. Além disso, as plantas não apresentaram qualquer indício de murchamento ou queima devido a aplicação do pré-formulado (**Figura 17**).

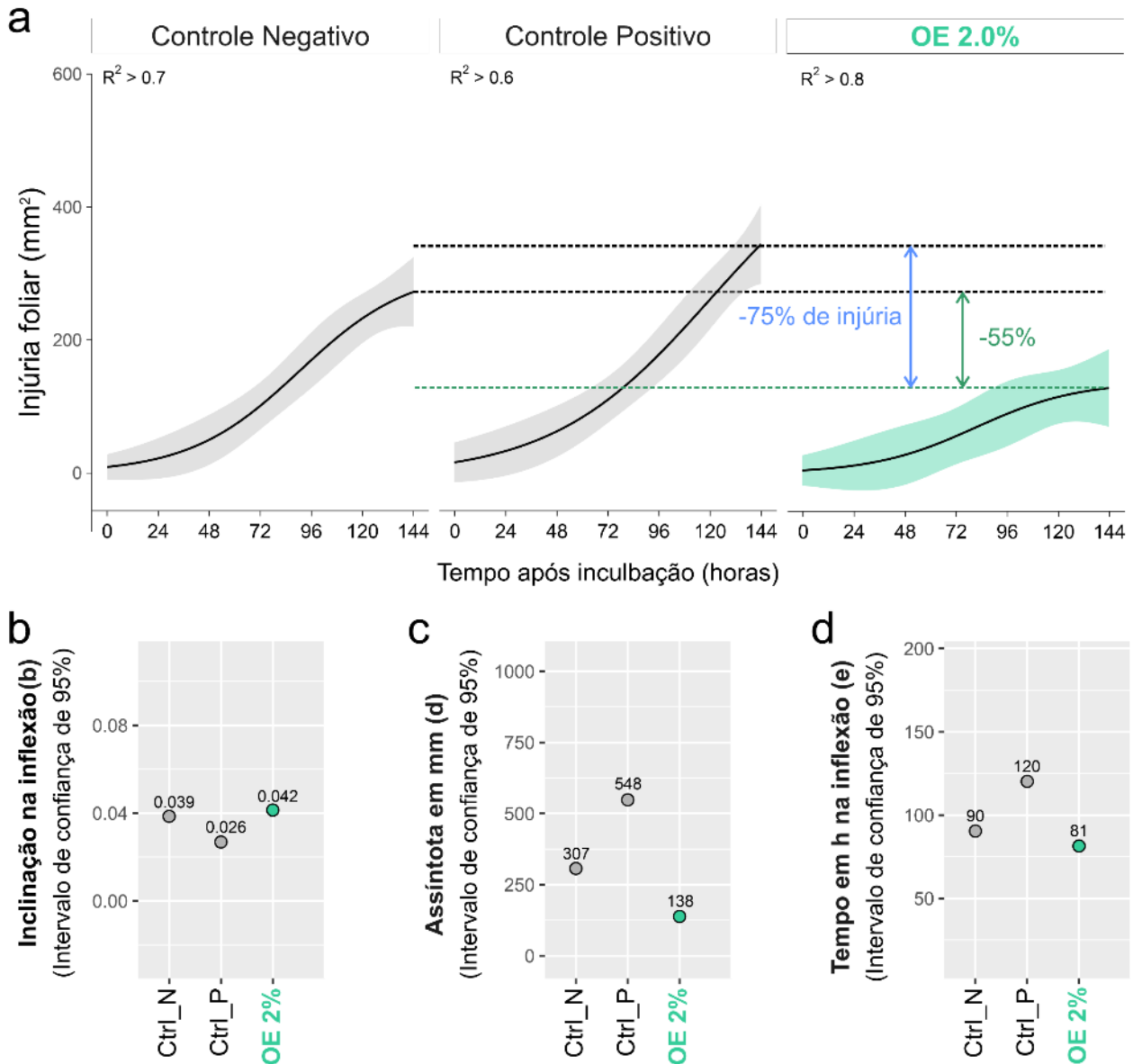


Figura 16. Crescimento de *Sclerotinia sclerotiorum* em folhas de feijoeiro sem tratamento (Ctrl-N), com controle positivo recomendado para cultura (Procimidona $0,75 \mu\text{g mL}^{-1}$) e com o produto formulado com 2% de OE durante cinco dias (144 h) após inoculação nas plantas (*In vivo*). Curvas de regressão (a), baseadas da função de Gompertz, demonstrando a evolução da lesão causada pelo patógeno em folhas de plantas de feijão. Os círculos ligados por linhas tracejadas indicam as repetições, a linha preta contínua representa o modelo de Gompertz justado e a região sombreada em lilás indica o intervalo de confiança (95%). (b): Coeficiente inclinação da curva de crescimento do patógeno no ponto de inflexão (adimensional); (c) Assíntota superior, proporcional ao espalhamento do patógeno na área médiamáxima das folhas; (d) Tempo de crescimento até atingir o ponto de inflexão da curva. Tempos de observação: 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas. No geral, quanto menor a posição dos marcadores (círculos) com relação ao eixo das ordenadas (vertical), maior o controle do tratamento sobre o coeficiente analisado.

Comparando as plantas lado a lado, podemos observar exemplos desse experimento com a inoculação de *S. sclerotiorum* em plantas de feijão (Figura 17a), demonstrando o potencial destrutivo do patógeno na ausência do tratamento baseado em OE de velame poucos dias após a contaminação (Figura

17b). Simultaneamente, também foi observado que a lesão não evoluiu em tratamentos baseados em OE 2% (**Figura 17c**). Em paralelo, observou-se um rápido crescimento da lesão em plantas tratadas com Procimidona ($0,75 \mu\text{g mL}^{-1}$), enquanto em plantas tratadas com OE 2% não houve a mesma severidade (**Figura 17d**).



Figura 17. Comparação da evolução do sintoma de *S. sclerotiorum* em plantas de feijão para os principais tratamentos em destaque (*in vivo*). (a) Exemplo de aplicação nas folhas (pré-tratadas com OE de *Croton* sp.) do disco de meio de cultura contendo o inoculo ativo de *S. sclerotiorum* crescido nas últimas 24h antes do experimento. (b) Comparação dos sintomas entre plantas do controle negativo com (esquerda) e sem (direita) o patógeno. (c) Comparação entre plantas tratadas com formulação a 2% de óleo essencial de *Croton* sp. com (esquerda) e sem (direita) patógeno. (d) Comparação entre sintomas de plantas infectadas com *S. sclerotiorum* tratadas com formulação de 2% de óleo (esquerda) e o controle o controle positivo baseado no fungicida Procimidona (direita), indicando que dosagens a partir de 1% já exerceram uma resistência considerável contra o desenvolvimento dos sintomas do patógeno nas plantas. **Tratamentos:** v_2.0% (*Croton* 2%); Ctrl_N (controle negativo absoluto); Ctrl_P (controle positivo – Procimidona $0,75 \mu\text{g mL}^{-1}$); +patog. = com patógeno; -patog. = sem patógeno.

3.7. Outras parcerias estratégicas, formulações do produto e lançamento no mercado

A **INSYGRO** está continuamente dialogando e amadurecendo uma parceria com uma grande empresa especializada no desenvolvimento de produtos foliares, a **Gransete - Nutrição e Fisiologia Vegetal**, sediada no município de Luis Eduardo Magalhães (BA), mas com representação em PE. Essa empresa tem sido um exemplo de modelo de negócio devido a sua rápida expansão no mercado de foliares, produzindo soluções para várias culturas importantes, como algodão, soja, uva, milho goiaba, manga, café, entre outras. A **Gransete** irá auxiliar nas fases posteriores deste projeto, ajudando no desenvolvimento de novos produtos e protocolos em campo com o objetivo de escalonar o trabalho e os produtos inovadores quem vêm sendo desenvolvidos pela **INSYGRO** na Região Agreste de Pernambuco para outros estados.

Além dos problemas com patógenos, o fato de os solos do Agreste serem pobres em macro e micronutrientes e a fertilização da mandioca ser muito irregular ou inexistente, segundo informações COOPAF, foi a base para a formulação do nosso produto, denominado de **FertExtrat** (**Figura 18**). O produto foi desenvolvido com o enriquecimento do extrato orgânico com os micronutrientes Mn, Cu, Zn e Fe em uma

proporção balanceada, importantes para o acúmulo de matéria seca da planta e desenvolvimento da parte comercial (SILVA et al., 2014; TEIXEIRA et al., 2020).



Figura 18. Produto envasado e rotulado que será destinado ao campo. O produto será comercializado em unidades de 1 L. O tipo de embalagem atual está em avaliação e poderá sofrer modificações. O rótulo também é provisório e novas informações irão ser adicionadas a embalagem após a conclusão da etapa de registro e licenciamento.

Para exemplificar as motivações para a escolha desses elementos e desenvolvimento deste produto, alguns pontos serão destacados a seguir: Além de auxiliar na nutrição das plantas, o Mn presente na fórmula diminui os danos causados pelo estresse hídrico das plantas (TEIXEIRA et al., 2020), que é uma porta de entrada para muitos patógenos da cultura, seja pelo excesso ou pela falta de água. Isso por si só já confere um potencial considerável do **FertExtrat** no combate a fitopatógenos da cultura, principalmente na região Agreste, onde a mandioca é cultivada predominantemente em sequeiro e a distribuição das chuvas é irregular. A deficiência de Mn se apresenta em solos arenosos e muito lixiviados e em solos com correção inadequada da acidez, situação típica em muitos municípios do Agreste, incluindo São João, onde frequentemente ocorre a má incorporação do calcário ou sua aplicação em doses excessivas (casos mais raros). O Mn também é fundamental no metabolismo antioxidante, sendo cofator da superóxido dismutase (SOD), uma enzima que atua na eliminação dos radicais livres gerados após o ataque de pragas e doenças nas plantas, ajudando a diminuir os danos causados pelo estresse oxidativo (MILLALEO et al., 2010). Quando ao Cu, além de ser um micronutriente importante para as plantas, está no centro da enzima polifenoloxidase, que desempenha um papel crucial na defesa das plantas contra patógenos (MAYER, 2006). Na sua forma Cu^{+2} , esse elemento é acumulado nas células de fungos sensíveis, formando complexos com enzimas que possuem radical sulfidril, carboxila, hidroxila ou amino, inibindo ou diminuindo a atividade fúngica (GARCIA, 1999). O Zn também auxilia significativamente no desenvolvimento de raízes comerciais da mandioca (CAMPOS et al., 2013), sendo indispensáveis em solos deficientes. Além disso, o estudo de Silva (2022) demonstrou que a complementação conjunta de Zn e Fe contribuirão para melhorias na arquitetura de planta de mandioca, aumento de produtividade e influenciou na absorção de macro e micronutriente nas folhas (Mg, Fe e Mn), na haste (Fe e Mn), na cepa (N, P, K, Ca, S, Cu e Mn) e na raiz tuberosa (N, K, Ca, Mg, Fe, Zn e Mn), além de melhorar as

características nutricionais. Vários outros trabalhos podem ser encontrados na literatura sobre os benefícios desses micronutrientes para a mandioca e outras culturas.

Diante dessas características, incluindo os custos de produção a eficiência comprovada do produto e do seu grau de inovação, espera-se realizar o seu lançamento com um preço inicial em torno de R\$ 200 a R\$ 300 por litro. Esse valor se justifica, uma vez que produtos disponíveis no mercado com propostas semelhantes, como por exemplo o Clozal® Cobre, custando entre cerca de R\$ 60 ([link1](#)) e R\$ 300 ([link2](#)) a unidade envazada, possuem baixa eficiência contra os patógenos avaliados para a concentração de 2,5 g L⁻¹ (**Figura 19a**) quando comparados ao FertExtrat em dosagem reduzida (0,25%, **Figura 19b**), se observando rápido crescimento do patógeno na ausência dos produtos (**Figura 19c**). No mesmo experimento, outro produto classificado como fungicida, o Recop®, baseado em oxicleto de cobre, considerado muito eficiente no controle de doenças causadas por *Coletotrichum* spp., *Fusarium* spp. e vários outros fungos, com preço variando entre R\$ 100 ([link3](#)) e R\$ 140 ([link4](#)), apresentou resultados melhores que o Clozal®, no entanto, não conseguiu inibir totalmente o crescimento dos patógenos por mais de sete dias após inoculação (**Figura 19d**), mesmo em concentrações muito altas no meio (2,5 g L⁻¹). Além desses produtos, unidades de outros fungicidas podem facilmente ultrapassar esses valores, com o caso do Cabrio Top 1 kg, baseado em Composição Metiram + Piraclostrobina, considerado nocivo ao meio ambiente e podendo custar cerca de R\$ 250 ([link5](#)). Por outro lado, defensivos agrícolas baseados em extratos de plantas atendem a um mercado específico, disposto a trabalhar em outro nível de precificação devido ao menor potencial de risco ambiental como por exemplo o TIMOREX Gold, baseado no extrato de *Melaleuca alternifolia* (Registro MAPA: 22116).

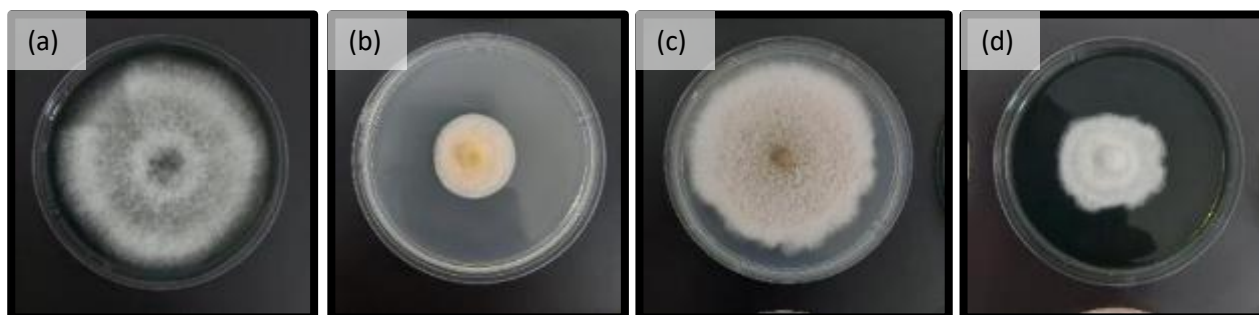


Figura 19. Exemplo comparando o FertExtrat com dois outros produtos comerciais quanto a eficiência de controle de *Fusarium* sp. (a) Clozal® 2,5 g L⁻¹; (c) INSYGRO FertExtrat em dosagem reduzida (0,25%); (d) controle negativo, demonstrando pleno crescimento do patógeno; (b) Recop® 2,5 g L⁻¹.

3.8. Ampliação do laboratório de biotecnologia e criação a Biofábrica INSYGRO

Além de todas as parceiras mencionadas, reforçamos que a INSYGRO realizou todas as etapas de desenvolvimento do seu produto em seu laboratório próprio de pesquisa, **Laboratório de Biotecnologia e Inovação Tecnológica (LABINTEC) da INSYGRO (Figura 20)**. Como **medida estratégica**, a empresa, juntamente com o laboratório, antes sediada no município de Capoeiras-PE, mudou seu endereço para a cidade de Garanhuns-PE, um município satélite com comércio mais ativo e maiores oportunidades de negociação, melhor logística e proximidade com instituições importantes, como A COOPAF, IPA,

Universidades/Institutos (UFAPE e IFPE), produtores e empresas parceiras interessadas em investir ou divulgar nosso produto e outros que futuramente serão desenvolvidos.



Figura 20. Exemplos de alguns equipamentos, espaços e rotinas no LABINTEC. Além das atividades deste projeto, a INSYGRO já tem estrutura para realização de algumas análises ambientais, especialmente enzimáticas, pretendendo ampliar o seu portfólio para realizar outros serviços, como análise de rotina de solos, análises de dados e consultorias agronômicas em geral. Além disso a empresa busca parcerias multidisciplinares em busca da inovação.

Graças aos recursos disponibilizados pelo edital COMPET Soluções, além dos resultados alcançados, a INSYGRO ampliou seu laboratório através da aquisição de equipamentos fundamentais para o cumprimento dos objetivos propostos. Ressaltamos que essa foi uma iniciativa relevante para a região, sendo a INSYGRO uma instituição privada que se preocupa com as soluções que vem sendo aplicadas na agricultura do Agreste, quase sempre carente de assistência técnica especializada. Como resultado adicional, será criada a “**BIOFÁBRICA INSYGRO**”, também em Garanhuns, onde serão desenvolvidos novos produtos e abertas oportunidades de emprego, trazendo tecnologias de baixo impacto ambiental e colaborando com pesquisa e inovação. Atualmente, os processos de registros legais estão encaminhados para apreciação dos órgãos competentes (MAPA e IBAMA) através do serviço de assessoria de terceiros (PJ), sendo esta rubrica devidamente solicitada e aprovada pela FACEPE. Isso permitirá a livre comercialização do produto

4. CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO

A INSYGRO gostaria de ressaltar que todas as metas mensais pretendidas neste cronograma original e aprovado pela FACEPE foram alcançadas, mesmo com atrasos na entrega de alguns equipamentos e devido ao curto período de execução deste complexo projeto (12 meses). Também gostaríamos de destacar que o ciclo da mandioca facilmente ultrapassa os 12 meses para colheita, o que também dificultou a obtenção de resultados em campo, mas essa análise será continuada após a conclusão deste projeto visando a publicação de resultados e promoção/divulgação do produto. Nas etapas seguintes a empresa irá focar nos registros e licenças, melhorias no produto ou processo, novos negócios/parcerias e mercado em geral.

Quadro 1. Planejamento/cronograma original (*).

Atividades/Meses (a partir da implementação)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. Expedições rurais e coletas de materiais p/ pesquisa, experimentação e processamento	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
2. Seleção, obtenção e/ou cultivo das plantas da Caatinga	X	X	X	X	X							
3. Extração dos compostos bioativos			X	X	X	X	X	X	X	X		
4. Preparo da formulação				X	X	X						
5. Isolamento dos patógenos e testes <i>in vitro</i>					X	X	X	X				
6. Obtenção de mudas e protocolos em campo						X	X	X	X	X		
7. Análises Estatísticas e Financeiras							X	X	X	X	X	
8. Desenvolvimento de produtos, processos e patentes									X	X	X	X
9. Avaliação da sustentabilidade										X	X	X
10. Divulgação, implementação e relatórios										X	X	X

Quadro 2. Quadro com o cronograma adaptado para os meses de execução (*).

MÊS DE ATIVIDADE EXECUTADO	MÊS E ANO DE REFERÊNCIA	META PACTUADA	PERCENTUAL ATENDIDO DA META (a)
1º Mês	Abr-Mai/2024	Expedições rurais, coletas de materiais, pesquisas, experimentação e processamento de dados. Seleção, obtenção e/ou cultivo das plantas da Caatinga. Projeto do destilador de plantas.	100%
2º Mês	Mai-Jun/2024		
3º Mês	Jun-Jul/2024	Continuidade de atividades do 1º mês + Bioprospecção de material e busca de fornecedores em potencial; Extração de compostos das plantas.	100%
4º Mês	Jul-Ago/2024	Continuidade de atividades do 2º mês + Processo de obtenção de material vegetal e extrações; Testes e preparos de formulações (será contínuo).	100%
5º Mês	Ago-Set/2024	Continuidade de atividades do 3º mês + Isolamento dos patógenos e testes <i>in vitro</i> .	100%
6º Mês	Set-Out/2024	Continuidade de atividades do 4º mês + Obtenção de mudas e início dos protocolos em campo.	100%
7º Mês	Out-Nov/2024	Continuidade de atividades do 6º mês + Análises Estatísticas e Financeiras.	100%
8º Mês	Nov-Dez/2024	Avaliações financeiras, econômicas e de desempenho do produto através de teste em ambientes controlados.	100%
9º Mês	Dez/24-Jan/25	Desenvolvimento do processo de obtenção e formulação do produto, escrita de patente e estudos para obtenção de licenças legais diversas para a produção.	100%
10º Mês	Jan-Fev/2025	Atividades do mês 10 + avaliação da sustentabilidade e da adequação do ambiente de produção.	100%
11º Mês	Fev-Mar/2025	Atividades nos meses 9, 10 e estudos de assessorias para atender burocracias regulamentações para produção em escala ampliada e comercialização.	100%
12º Mês	Mar-Abr/2025	Contratação de assessorias de empresas especializadas para: (1) registros de patente de produto no INPI; (2) regulamentações gerais do ambiente de produção junto aos órgãos competentes (MAPA, IBAMA e outros); (3) Estudos de projeções econômicas/financeiras e de otimizações na produção do FertExtrat; (4) escrita de relatório final.	100%

(*) Período abrangido ao longo dos doze meses de execução, entre 23/04/2024 e 22/04/2024.

(a) Declaramos que cumprimos integralmente as metas planejadas em cada um dos doze meses, como relatado no tópico 2 (RESUMO GERAL DA EXECUÇÃO DO PROJETO). Acreditamos ainda termos cumprido todas as etapas propostas no projeto originais e além, uma vez que estamos na etapa de regulamentações da fábrica e do produto nos órgãos competentes para prosseguir com a produção em maior escala e comercialização. Deste modo, reiteramos que o **OBJETIVO** desta proposta foi

“desenvolver produto e processo para auxiliar no controle biológico dos principais patógenos que causam severos prejuízos fitossanitários e econômicos na cultura da mandioca”.

5. INDICADORES DOS AVANÇOS REALIZADOS

Quadro 3. Detalhamentos dos principais indicadores de avanços.

Indicador	Resultados obtidos
Elaboração de destilador de extratos vegetais; Obtenção e formulação do produto.	Com a construção do equipamento denominado de VAPER_I , melhoramos a eficiência na obtenção de extratos vegetais devido as suas características singulares. O processo de obtenção e a formulação do produto FertExtrat foram detalhados no relatório da Patente de Invenção (BR 20 2025 009552 7) , como previsto no cronograma. Além disso, essa iniciativa apoiou as ODS 2, 15 e 17, colaborando com práticas agrícolas sustentáveis, de baixo impacto ambiental e preocupadas com o desenvolvimento social e comercial do Agreste de Pernambuco.
Auxílio em trabalhos acadêmicos.	Como instituição, a INSYGRO apoiou pesquisa a nível de Mestrado na UFAPE sobre alternativas para o controle da doença mofo-branco na cultura do feijão, intitulado “Potencial de extratos de plantas do semiárido no controle de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> na cultura do feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)” , concluído/defendido em abril de 2025. A INSYGRO ainda pretende se comprometer com novos trabalhos visando a manutenção da parceria estratégica Empresa-Universidade. Reiteramos que no Brasil as interações entre iniciativa privada e pública ainda são raras, principalmente envolvendo universidade, sendo uma parceria crucial e já bem estabelecida em países desenvolvidos. Isso ressalta a importância de empresas com iniciativas semelhantes a da INSYGRO, interessada e desenvolver e acelerar a transferência rápida de tecnologias relevantes para o Agronegócio, que são pouco exploradas no ambiente acadêmico.
Ampliação do Laboratório e construção da BIOFÁBRICA da INSYGRO.	Graças aos auxílios da FACEPE/SECTI, a INSYGRO mudou seu endereço para o município de Garanhuns-PE, mudança de grande impacto estratégico, e ampliou a infraestrutura do seu Laboratório de Biotecnologia e Inovação Tecnológica (LABINTEC) , além de alicerçar o desenvolvimento e a abertura da BIOFÁBRICA de desenvolvimento de produtos baseados em recursos naturais regionais. Essa iniciativa, além de ser uma novidade para a cidade e região, pretende colaborar com contratações, estágios e novas parcerias em um futuro breve.
Parcerias com grandes empresas do ramo agrônomo.	A nossa empresa está em constante diálogo com Gransete - Nutrição e Fisiologia Vegetal , através da Diretora Técnica Comercial, Sra. Ângela Gorgen, discutindo sobre o desenvolvimento das etapas seguintes deste produto, envolvendo o seu escalonamento para outras culturas e regiões, além do desenvolvimento de novas tecnologias e produtos. Além disso, atualmente também estamos com um diálogo aberto com o Dr. Adijailton Jose de Souza, pesquisador na empresa Itaueira Agropecuária S.A. , na qual pretendemos

fornecer um lote de nosso produto após a etapa de registros para elaboração de protocolos, divulgação e possível porta comercial.

6. COMENTÁRIOS GERAIS E PERSPECTIVAS

6.1. Outras Dificuldades Encontradas

Além das dificuldades já relatadas no tópico (2.2.7), algumas observações relacionadas aos tramites legais para comercialização do nosso produto foram aqui apresentadas. No Brasil ainda há grande demora na fila de espera onde tramita os processos relacionados aos registros gerais para liberação da produção e comercialização do produto, o que exigirá um pouco mais de esperar para o lançamento oficial e legal do produto da empresa. No entanto, graças as assessorias/consultorias contratadas, a empresa já foi orientada em todos os pontos necessários e ainda continuará a contar com auxílio das mesmas durante todas as etapas dos processos (MAPA, IBAMA etc.) até liberação legal do produto. Embora haja mecanismos previstos, visando a aceleração dos processos solicitados por pequenas empresas e *startups*, tais reivindicações foram desaconselhadas pelas assessorias especializadas, pois podem oferecer certos riscos indesejados para a empresa solicitante (como a negação dos pedidos em andamento). Contudo, a INSYGRO adotou todas as orientações das assessorias especializadas e está confiante quanto a liberação do produto ainda no segundo semestre de 2025, o que pode ser visto como um período relativamente curto de espera, tendo em vista a relevância deste tipo produto para o mercado e culturas em geral. Além disso, gostaríamos de ressaltar todo o trabalho feito para o seu desenvolvimento dentro de apenas 12 (doze) meses, considerando: **(A)** As especificidades edafoclimáticas da região Agreste-PE; **(B)** O isolamento das variedades dos patógenos alvo causadores dos maiores problemas para a cultura (mandioca) no Agreste; **(C)** O desenvolvimento da tecnologia e de equipamentos de produção; **(D)** O desenvolvimento integral e otimizações do produto comercial; **(E)** Mudança estratégica da sede da empresa e mobilização de todos os tramites burocráticos para liberação da comercialização, além de outros pontos discutidos anteriormente. Por fim, a seguir apresentamos alguns objetivos futuros para esta iniciativa e para a empresa.

6.2. Próximos Passos e Perspectivas Futuras

- (A) Parcerias Comerciais Estratégicas:** Como mencionado anteriormente, parcerias estratégicas estão sendo discutidas com alguns parceiros comerciais e clientes, especialmente com a **Gransete - Nutrição e Fisiologia Vegetal**, empresa com vasta experiência na área de produtos agrícolas foliares. Com essa interação, a INSYGRO espera alcançar novos setores, incluindo a oportunidade de escalonamento de nosso(s) produto(s) tanto em Pernambuco quanto para grandes produtores na região do Matopiba, especialmente no perímetro de Luís Eduardo Magalhães (BA)
- (B) Uso do Produto em Campo Comerciais em geral:** Mais trabalhos serão focados em protocolos de campo com o produto já registrado e liberado pelos órgãos competentes. Tal iniciativa foi altamente recomendada por nossos colaboradores e por representantes das consultorias

prestadas a INSYGRO, visando a segurança dos produtores e a gestão de boas práticas por parte da INSYGRO. Como resultado, outras culturas serão contempladas, como o feijão, soja tomate, olerícolas em geral e outros mercados que se mostrarem mais apropriados.

- (C) Divulgação e Implementação de resultados:** Os resultados do projeto serão continuamente divulgados para a comunidade local e para os agricultores através de workshops e materiais educativos organizados pela COOPAF. Além disso, os produtos e processos desenvolvidos serão implementados em parceria com a COOPAF. Com este projeto, foi desenvolvido tanto um produto eficaz no controle das principais doenças da mandioca (antracnose e fusarioses) quanto a possibilidade de agricultores cultivarem plantas nativas e oriundas da Caatinga como matéria prima para elaboração do FertExtrat ou de novos produtos baseados nos extratos dessas plantas. Após liberação da comercialização, iremos divulgar amplamente essa iniciativa e produtos atraindo parceiros estratégicos e produtores interessados em sua aquisição.
- (D) Promoção de práticas sustentáveis:** Além disso, o projeto demonstrou impacto positivo na conservação da Caatinga, uma vez que apontou o potencial de plantas nativas, até então sem nenhum valor comercial, quanto ao uso biotecnológico. A INSYGRO continuará a promovendo inovação visando práticas agrícolas mais sustentáveis, minimizando o uso de agrotóxicos extremamente nocivos para o meio ambiente.
- (E) Impactos Relacionados aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODSs):** com o desenvolvimento do produto e conclusão deste projeto, a INSYGRO continuará comprometida em promover práticas agrícolas sustentáveis (ODS 2), a conservação e uso sustentável dos ecossistemas terrestres (ODS 15) e a promoção de parcerias para o desenvolvimento sustentável (ODS 17).

7. RESUMO DA EXECUÇÃO FINANCEIRA

Quadro 4. Relato de execução financeira.

ITENS APOIADOS	VALOR APROVADO	VALOR EXECUTADO	SALDO
Despesas de Capital (equipamentos permanentes)	R\$ 27.959,00	R\$ 27.946,18	+R\$ 12,82
Despesas de Custeio (reagentes, vidrarias e outros)	R\$ 23.241,00	R\$ 23.152,30	+R\$ 88,70
Despesas de Custeio (Serviços de terceiros PJ)	R\$ 24.000,00	23.986,00	+R\$ 14,00
Diárias	R\$ 4.800,00	R\$ 4800,00	R\$ 0,00
TOTAL DE RECURSOS FACEPE	R\$ 80.000,00	R\$ 79.884,48	+R\$ 115,52,00
CONTRAPARTIDA FINANCEIRA	R\$ 4.100,00	R\$ 4.200,00	-
RENDIMENTOS DE APLICAÇÃO FINANCEIRA	-	-	-
TOTAL GERAL	R\$ 84.200,00	R\$ 84.084,48	+R\$ 115,52,00

(*) Excluindo a contrapartida financeira da INSYGRO, cerca de 99,86% do recurso total aprovado pela FACEPE (R\$ 80.000,00) foram utilizados dentro dos 12 meses de execução do projeto.

Referências

- ABDEL-GAIED, T.G., et al., 2020. Field application of bio-control agents and aqueous plant extracts for controlling bacterial soft rot and enhancement yield quality of *Solanum tuberosum* L. cv. Diamond. *Bull Natl Res Cent* 44, 82.
- AGROLINK. Podridão de Esclerotínia. Disponível em: https://www.agrolink.com.br/problemas/podridao-de-esclerotinia_1555.html. Acesso em: 25 mar. 2025.
- AHMED, H.F.A., et al., 2023. Activity of Essential Oils and Plant Extracts as Biofungicides for Suppression of Soil-Borne Fungi Associated with Root Rot and Wilt of Marigold (*Calendula officinalis* L.) *Horticultura* 2023, 9(2), 222.
- BARROS, D.B.S. et al. 2018. Tempo de extração para óleo essencial de *Croton* spp. (Euphorbiaceae). *Revista Brasileira de Meio Ambiente*. 3, 1 (set. 2018).
- BELLÉ, C., et al., 2019. *Colletotrichum gloeosporioides* causing leaf anthracnose on *Oxalis corniculata* in Brazil. *Australasian Plant Dis. Notes* 14, 36.
- BUSATO, N.V., et al., (2014). Estratégias de modelagem da extração de óleos essenciais por hidrodestilação e destilação a vapor. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.44, n.9, p.1574-1582.
- CAMPOS et al., 2013. Desenvolvimento da mandioca em função da calagem e adubação com zinco. VII Workshop Agroenergia – Ribeirão Preto, SP.
- CARVALHO, J.N., et al., 2022. Native caatinga species for the recovery of degraded areas in the brazilian semiarid region. *Rev. Árvore*, 46:e4610.
- CHEIKHYOUSSEF, N., 2020. The Application of Supercritical Carbon Dioxide in the Extraction of Biomolecules. In: Inamuddin, Asiri, A. (eds) *Advanced Nanotechnology and Application of Supercritical Fluids. Nanotechnology in the Life Sciences*. Springer, Cham.
- CHOUDHURY, D., DOBHALL, P., SRIVASTAVA, S., SAHA, S., & KUNDU, S. (2018, August 2). Role of botanical plant extracts to control plant pathogens. *Indian journal of agricultural research*.
- DEMARTELAERE, ACF., et al., 2015. Extratos vegetais no controle da antracnose e na conservação da qualidade em frutos de mamoeiro. *Revista brasileira de plantas medicinais*, 17:1041-1048.
- EMBRAPA, 2020. Podridões em raízes de mandioca: problemas e soluções para o seu controle. Raimundo Nonato Brabo Alves... [et al.]. – Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2020. 24 p.
- EMBRAPA, 2023. Mandioca - Portal Embrapa. Recuperado em 29 de janeiro de 2024, de [<https://www.embrapa.br/mandioca-e-fruticultura/cultivos/mandioca>].
- FAO, 2013. *Save and Grow: Cassava - A guide to sustainable production intensification*, 2013, ISBN 978-92-5-107641-5
- FAO, 2023. *The world cassava economy - Food and Agriculture Organization*. Recuperado em 29 de janeiro de 2024, de [<https://www.fao.org/3/x4007e/X4007E04.htm>].
- FAOSTAT, 2021. *Production; Cassava; all Countries*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Recuperado em 29 de janeiro de 2024, de [<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>]
- FATHIMA, A.A., et al., 2022. Cassava (*Manihot esculenta*) dual use for food and bioenergy: A review. *Food and Energy Security*. 2022;12:e380.
- FERNANDES, Daiana Nolasco Moreira. *Composição Química, Atividade Antimicrobiana E Antioxidante Do Óleo Essencial de Croton tetradenius Baill (EUPHORBIACEAE)*. 2016.
- FERNANDES, M.F., et al., 2022. The Origins and Historical Assembly of the Brazilian Caatinga Seasonally Dry Tropical Forests. *Front. Ecol. Evol.* 10:723286.
- FINCHEIRA, P., et al., 2023. The efficient activity of plant essential oils for inhibiting *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*: Mechanistic insights into antifungal activity. *Microbiological Research*. 277, 127486.
- GARCIA, A. *Fungicidas I: utilização no controle químico de doenças e sua ação contra os fitopatógenos*. Porto Velho: EMBRAPA-CPAF Rondônia, 1999. 32p. (EMBRAPA-CPAF Rondônia. Documentos, 46).
- GOMES, A.B., et al., 2024. Plant vegetative propagation plays a considerable role in the regeneration following slash-and-burn agriculture in Caatinga dry forest. *Acta Oecologica*, 122, 103971.
- HUANG, H., et al., 2020. Biological control of poplar anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. *Egypt J Biol Pest Control* 30, 104.
- IBGE, 2022. *Produção Agrícola – Lavoura Temporária*. Acessado em <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pe/sao-joao> Data: 12 jan 2024.
- IBGE, 2023. *Indicadores IBGE: Estatística da produção agrícola (Biblioteca)*. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo>. Acesso em: 29 de janeiro de 2024.
- LEBOT, V., 2020. Cassava: pests and diseases. *Tropical Root and Tuber Crops: Cassava, Sweet Potato, Yams and Aroids*, 73–88.

- LIMA, J.S., et al., 2020. Atividade fungitóxica de extratos vegetais de plantas da Caatinga sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* em *Vitis vinifera* L. Anais do CONNEP 2020. IFAL, Alagoas, 2010.
- LIU YJ, WHELEN S, HALL BD., 2000. Phylogenetic relationships among ascomycetes: evidence from an RNA polymerase II subunit. *Mol Biol Evol.*;16(12):1799-1808.
- LUZ, M.A. (2022). Estudo químico do óleo essencial das folhas de *Croton heliotropiifolius* Kunth (euphorbiaceae). Trabalho de conclusão de curso – Universidade Estadual da Paraíba – Centro de Ciências e Tecnologia. 20p.
- MAYER, A.M., 2006. Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places? A review. *Phytochemistry* 67(21): 2318-2331.
- MENDONÇA et al., 2019. Caracterização dos méis de abelha *Apis mellifera* das floradas Velame e Marmeleiro da região de Minas Gerais. Anais do 59º Congresso Brasileiro de Química. João Pessoa, PB.
- MILLALEO, M., et al., 2010. Manganese as essential and toxic element for plants transport, accumulation and resistance mechanisms. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 10(4): 470-481.
- OGWOK, E., et al., 2016. Comparative analysis of virus-derived small RNAs within cassava (*Manihot esculenta* Crantz) infected with cassava brown streak viruses. *Virus Research*, 215, 1–11.
- OULAHAL, N.; DEGRAEVE, P., 2022. Phenolic-Rich Plant Extracts With Antimicrobial Activity: An Alternative to Food Preservatives and Biocides? *Front. Microbiol.* 12:753518.
- PEREIRA JR., et al., 2014. Espécies da Caatinga como Alternativa para o Desenvolvimento de Novos Fitofármacos. *Floresta e Ambiente*. 21(4):509-520.
- PERUCH, L.; BONFIM Jr., M., 2018. Doenças da mandioca e seu controle. In book: Recomendações técnicas para a produção de mandioca de indústria e mesa em Santa Catarina (pp. 62–67).
- POPOVA, M.; BANKOVA, V., 2023. Contemporary methods for the extraction and isolation of natural products. *BMC Chemistry* 17, 68.
- PWAKEN, D.B., et al., 2020. Evaluation of Efficacy of some Plant Extracts for the Control of Anthracnose (*C. gloeosporioides*) of White Yam (*D. rotundata* Poir). *Agri. Food Sci. J. Ghana*. 13: 1269-1282.
- QUEIROZ, C.L.; FIGUEIRÊDO, R.M.F. 2004. Caracterização físico-química de méis produzidos no Estado do Piauí para diferentes floradas. *Rev. bras. eng. agríc. ambient.* 8 (2-3).
- QUEIROZ, L.P., 2006. The Brazilian Caatinga: Phytogeographical Patterns Inferred from Distribution Data of the Leguminosae (Chapter 37), 37p. In: Pennington, R.T. & Ratter, J.A. (Editors). *Neotropical Savannas and Seasonally Dry Forests* (1st Edition). CRC Press, Boca Raton.
- RANJITHA, N., et al., 2019. Evaluating Eco-friendly Botanicals against *Colletotrichum gloeosporioides* causing Anthracnose of Mango. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.*, 8:1809-1816.
- ROCHA, J.L.A., et al., 2021. Nutrient Reduction in the Initial Growth of Caatinga Tree Species. *Floresta e Ambiente* 2021; 28(4): e20210044.
- SANTOS SOUZA, A., et al., 2023. Patterns of Biological and Utilitarian Diversity of Plants Through a Dry Forest Precipitation Gradient. *Econ Bot.*
- SANTRA, HK.; BANERJEE, D., 2020. Natural Products as Fungicide and Their Role in Crop Protection. Springer eBooks, 131-219.
- SAVARIRAJAN, D.; RAMESH, V.M.; MUTHAIYAN, A., 2021. In vitro antidermatophytic activity of bioactive compounds from selected medicinal plants. *J. Anal. Sci. Technol.* 12, 53.
- SILVA, H.R.F., et al., 2014. Acúmulo de matéria seca e micronutrientes em mandioca consorciada com bananeira. *Pesq. Agropec. Trop.*, Goiânia, v. 44, n. 1, p. 15-23.
- SILVA, H.S.A.; ANDRADE, E.C., 2011. Impacto potencial das mudanças climáticas sobre as doenças da mandioca no Brasil. In: GHINI, R.; HAMADA, E.; BETTIOL, W. (Ed.). *Impactos das mudanças climáticas sobre doenças de importantes culturas no Brasil*. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2011. 356 p.
- SILVA, J.A. 2022. Fertilização com ferro e zinco em batata-doce e mandioca: efeitos sobre os parâmetros produtivos, composição química e qualidade tecnológica de raízes. Tese (Doutorado) - Agronomia (Energia na Agricultura) - Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Campus de Botucatu. 144 p.
- SILVA, M.H.M (2020). Influência da sazonalidade sobre a composição química e bioatividade de óleos essenciais em cinco espécies de *Croton* L. (Euphorbiaceae). 2020. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2020.
- SOUZA, A.V.V., 2012. Propagação vegetativa de velame, uma espécie medicinal nativa da Caatinga. *Horticultura Brasileira* 30: S5991-S5996.
- SOUZA, A.V.V., et al., 2022. "Bioprospecção de plantas da Caatinga com potencial para produção de fitomedicamentos." *Revista Fitos, Rio de Janeiro. Supl. (2):* 212-226. e-ISSN: 2446-4775.
- SOUZA, G.S., et al., (2017). Chemical composition and yield of essential oil from three *Croton* species. *Ciência Rural, Santa Maria*, v.47: 08, e20161054.
- SUBBA, R., MATHUR, P., 2022. Functional attributes of microbial and plant based biofungicides for the defense priming of crop plants. *Theor. Exp. Plant Physiol.* 34, 301–333.

- TEIXEIRA, G.C.M., et al., 2020. Silício na mitigação dos estresses por deficiência de manganês e pelo déficit hídrico em mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar (Revisão Bibliográfica). Jaboticabal v.48, n.2, p.170-187.
- TILEUBERDI, N., et al., 2022. Extraction, Isolation of Bioactive Compounds and Therapeutic Potential of Rapeseed (*Brassica napus* L.). Molecules. 27, 8824.
- TORRES, M.C.M., et al. (2021). Composição química do óleo essencial das folhas de *Croton heliotropiifolius* Kunth (Euphorbiaceae). Brazilian Journal of Development, Curitiba, v.7, n.2, p. 15862-15872.
- VENTUROSO, L., et al., 2011. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. Summa Phytopathologica, 37(1), 18-23.
- WCPM - Webinar Cadeia Produtiva da Mandioca: Impactos da Covid-19, 2020. Realizado em 09/07/20, pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) e Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (Cepea).
- ZENG, Z., et al., 2023. Genetic Evidence for *Colletotrichum gloeosporioides* Transmission Between the Invasive Plant *Ageratina adenophora* and Co-occurring Neighbor Plants. Microb Ecol 86, 2192–2201.
- ZHOU, X., et al., 2023. The potential role of plant secondary metabolites on antifungal and immunomodulatory effect. Appl Microbiol Biotechnol 107, 4471–4492.
- ZINSOU, V. et al. (2006). Leaf waxes of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) in relation to ecozone and resistance to *Xanthomonas* Blight. Euphytica, v. 149, n. 01/02, p. 189-198.

-- INSYGRO C&T Agronômica --

Garanhuns, 22 de abril de 2025.

Sarah Jane Alexandre Medeiros

(Coordenadora Geral e Técnica do Projeto)

Sarah Jane Alexandre Medeiros

INSYGRO Ciência & Tecnologia Agronômica

R. São Miguel, 211, Boa Vista, Garanhuns, PE. CEP: 55.292-640.

E-mail: sarah.alexandre@insygro.com.br