



EDITAL Nº 08/2024-FACEPE (COMPET AME)

(RELATÓRIO TÉCNICO PARCIAL)

Produção de Fungos Micorrízicos Arbusculares Simbiontes da Mandioca por Propagação
Vegetativa de Plantas-Armadilha

Proponente: Sarah Jane Alexandre Medeiros

Executora: INSYGRO Ciência & Tecnologia Agronômica

Garanhuns, PE

Fevereiro (2025)

1. IDENTIFICAÇÃO

Título da Proposta:	Tecnologia de Produção Simbiótica de Fungos Micorrízicos Arbusculares da Mandioca via Propagação Vegetativa de Planta-Armadilha
Número do processo:	SIN-0376-5.01/24
Coordenadora Geral:	Sarah Jane Alexandre Medeiros (CPF: 117.721.624-85)
Instituição Executora:	INSYGRO Ciência & Tecnologia Agronômica CNPJ: 50.983.508/0001-25
Faixa*	A: R\$ 30.000,00 (trinta mil reais)
Vigência:	21/08/2024 – 20/08/2025
Atividade(s) da Instituição *	Agronegócio

2. INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma cultura essencial para mais de 1 bilhão de pessoas, especialmente nos países em desenvolvimento (EMBRAPA, 2023; Lebot, 2022), considerada o segundo alimento mais dinâmico do século XXI (EMBRAPA, 2023; FAO, 2013). Em 2022, a produção global de mandioca foi de 277 milhões de toneladas, com crescimento anual de 2,9% entre 2018 e 2022 (FAO, 2023; FAOSTAT, 2022). Em 2021, o Brasil foi responsável por 5,7% da produção global da cultura, o quinto maior produtor após Nigéria, República Democrática do Congo, Tailândia e Gana (FAOSTAT, 2022). Cultivada em todos os estados, a mandioca faz parte das 10 principais culturas do Brasil (1,225,012 ha), sendo a quarta em produção (18,200,277 t) em 2022 (IBGE, 2023). Cerca de 40% das raízes são destinadas à produção de farinha, 20% são para fécula e o restante é consumido como “mandioca de mesa” e na alimentação animal (EMBRAPA, 2023).

Principalmente no Nordeste do Brasil, a produção de mandioca é limitada por fatores climáticos, carência de recursos, e doenças virais, bacterianas, fúngicas e pragas (Lebot, 2020; Fathima et al., 2022), situação agravada pela ausência de variedades resistentes (Ogwo et al., 2016). A mandioca pode ser afetada por mais de 20 fungos causadores de podridões radiculares, incluindo *Phytophthora drechsleri* e *Fusarium solani* (Silva e Andrade, 2011), além da antracnose, causada por *Colletotrichum gloeosporioides* (Huang et al., 2020). A propagação desses patógenos é potencializada nas estações chuvosas, mas o uso direto das manivas (caules) sem tratamento adequado para propagação vegetativa é um fator agravante (Fukuda, 1986), o que exige a necessidade de técnicas de propagação vegetativa para obtenção de mudas saudáveis. Muitas cepas patogênicas possuem alta diversidade genética, impulsionando a adaptação e aquisição de resistência a diversos produtos químicos sintéticos (Zeng et al., 2023), o que aumenta a demanda de novos produtos e técnicas voltados para o controle biológico. Espécies fúngicas benéficas podem atuar como antagonistas, especialmente as endomicorrizas, capazes de aumentar a resistência do hospedeiro, competir por nutrientes, produzir compostos fenólicos e polissacarídeos na rizosfera e espessar a parede celular da planta, promovendo uma barreira mecânica à entrada de patógenos (Poveda et al., 2020).

Os fungos endomicorrízicos estão associados em torno de 80 a 90% com as angiospermas do planeta (Bhantana et al., 2021), sendo as únicas micorrizas que se associam às raízes herbáceas, formando estruturas celulares chamadas de arbúsculos, os **Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs)** (Zinati et al., 2023). A mandioca é considerada uma das culturas com maior dependência micorrízica, o que significa que as plantas dependem fortemente do grau de associação com espécies de FMAs no solo para seu crescimento

(Nahuelcura et al., 2022). Muitas espécies de micorrizas podem colonizar a mandioca e outras plantas hospedeiras, principalmente os fungos dos gêneros *Acaulospora*, *Gigaspora* e *Glomus* (Ceballos et al., 2013). Os FMAs desempenham um papel significativo na produtividade da mandioca, além de conferir efeitos bioprotetores contra nematoides (Séry et al., 2016), resistência a pragas e ao estresse hídrico (Bhantana et al., 2021; Nahuelcura et al., 2022). Os FMAs também podem contribuir com até 90% do P assimilado pela planta em solos com disponibilidade reduzida de P (Leake et al., 2004; Smith et al., 2011). De acordo com estudo de Ceballos et al. (2013), a inoculação do FMA *Rhizophagus irregulares* aumentou em 20% o rendimento das raízes de mandioca, além de diminuir em 50% a dosagem recomendada de P.

A limitação na disponibilidade de produtos baseados em micorrizas se deve ao fato de serem fungos biotróficos obrigatórios, ou seja, dependem de um hospedeiro vivo para seu crescimento (Sharma et al., 2023), sendo mais favorecidos por hospedeiros com maior número de pelos radiculares, especialmente as pastagens (Marzec et al., 2015). As “raízes peludas” crescem mais rápido e são metabolicamente mais ativas, produzindo maiores quantidades de metabólitos secundários do que as raízes “normais”, como citocininas, auxinas e opinas, que também alimentam bactérias rizosféricas, estimulando a infecção micorrízica e o ganho de massa fúngica (Kokkoris e Hart, 2019). A disponibilidade de fontes de carbono para os FMAs é fundamental para o sucesso da simbiose, onde as plantas podem alocar entre 8-17% de seus fotossintatos para os FMAs (Hobbie e Hobbie, 2006). No geral, as plantas investem uma fração de C na rede micorrízica, mas recebem em troca grandes quantidades de nutrientes, chegando até 94% do N e P acumulados (Walder et al., 2012). Vários fatores podem ser alterados visando o sucesso da micorrização: microclima, espécies de FMAs, genótipo da planta hospedeira, características físico-químicas do solo/substrato e disponibilidade de recursos, principalmente água, C, N e P (Ramos et al., 2022). Além disso, a compatibilidade das espécies com o ambiente-alvo, o grau de competição espacial com outros organismos do solo e o momento da inoculação também afetam a micorrização e resiliência dos FMAs (Berruti et al., 2016).

Dentre os métodos de multiplicação de **FMAs**, a técnica de culturas de raízes transformadas *in vitro* (TRC - *transformed root cultures*) tem sido uma alternativa para obtenção de propágulos fúngicos, um produto da transferência gênica do plasmídeo indutor de raízes (Ri) do *Agrobacterium rhizogenes* para o genoma de uma planta hospedeira, envolvendo altos custos e complexidade (Kokkoris e Hart, 2019). Outro método mais simples envolve a descoberta de **plantas-armadilha**, em sistema On-Farm, eficientes em recrutar propágulos infectivos de FMAs, beneficiando uma massa fúngica capaz de viabilizar econômica e ambientalmente as FMAs para os agricultores (BERRUTI et al., 2016; RAUT et al., 2019). Este método envolve o cultivo de plantas hospedeiras em substratos com esporos ou fragmentos de raízes colonizadas por FMAs. Após um período de crescimento, as plantas são removidas e o substrato é coletado. Este substrato, enriquecido com esporos de FMAs, pode ser usado como inóculo, permitindo o desenvolvimento de um produto comercial (RAUT et al., 2019). O aumento no número de esporos de FMAs é necessário para a viabilização em campo, mas o registro de produto semelhante para a cultura da mandioca é inexistente no Brasil. Existem algumas técnicas auxiliares capazes de induzir o crescimento dos FMAs, como envolvendo a produção de estringolactonas por plantas em condições limitantes de P inorgânico (Yoneyama et al., 2001). As estringolactonas compõem o grupo de nove reguladores de crescimento que podem ser utilizados no desenvolvimento de plantas, especialmente junto às auxinas, giberelinas e citocininas (Taiz e Zeiger, 2017). A utilização desses hormônios sintéticos, mesmo em baixas concentrações, ou a sua indução nas plantas inoculadas com FMAs pode auxiliar no aumento da taxa de esporulação e multiplicação desses fungos, como

observados para as espécies *Gigaspora margarita* (Akiyama et al., 2005) e *G. rósea* (Besserer et al., 2006). Outra estratégia para o aumento da produção de FMAs é a utilização de **bactérias auxiliares de micorriza (Mycorrhiza Helper Bacteria - MHB)**, frequentemente pertencentes aos gêneros *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Oxalobacteracea*, *Streptomyces* e *Bacillus*, dentre as quais *B. subtilis* e *Enterobacter* spp. são rizobactérias solubilizadoras de P (Bonfante e Lanfranco, 2019; Yadav et al., 2021). Em levantamento feito por Frey-Klett et al. (2007), como exemplo, foi relatado um aumento de até 60% na colonização radicular de cana-de-açúcar por *Glomus clarum*, um dos principais FMAs da mandioca, quando inoculado em conjunto com *Azotobacter diazotrophicus* e *Klebsiella* sp. O estudo de Vivas et al. (2003) foi um dos mais surpreendentes, mencionando um aumento de cerca de 17 vezes na colonização de *G. mosseae* em plantas de trevo-vermelho (*Trifolium pratense*) utilizando *Bacillus* sp., além de também auxiliar *G. intraradices*. De acordo com esses trabalhos, *G. mosseae* também pode colonizar com sucesso a mandioca, promovendo ganhos significativos na altura, massa seca e conteúdo de P e K, podendo inclusive superar os números observados para outras espécies FMAs, simbiotes de mandioca, pertencentes aos gêneros *Glomus*, *Gigaspora*, *Acaulospora* e *Sclerocystis* (Garcia e Almeida, 1987).

Como **justificativa**, apesar dos inúmeros estudos revelando a importância fundamental dos FMAs para as culturas em geral, o número de produtos baseados em micorrizas lançados no mercado são limitados ou inexistentes. Um relatório sobre a comercialização de biofertilizantes mencionou que o tamanho do mercado de micorrizas em 2014 foi estimado em US\$ 1,18 bilhão, devendo atingir US\$ 1,87 bilhão até 2029, mas o Brasil não performou na lista, sendo a Europa a maior região de expansão (Mordor Intelligence, 2024). Atualmente existe apenas um inoculante à base de micorriza, certificado pelo MAPA e disponibilizado no mercado brasileiro. Esse inoculante foi feito à base de *Rhizophagus intraradices*, testado para as grandes culturas, principalmente milho, soja, algodão, cana-de-açúcar, feijão, trigo e girassol, nas quais melhora a absorção de P, o rendimento de grãos e/ou a produção de biomassa (Stoffel et al., 2020), além de aumentar a recuperação das plantas pós-estresse hídrico (Santana, 2021). Tal produto, comercializado sob o nome de Rootella® BR (registrado sob nº 22902 10000-0), é performado através de um sistema híbrido de cultura de tecidos (Diop, 2003; Srinivasan et al., 2014; Schuessler, 2015) e de produção de propágulos fúngicos por meio de plantas-armadilha e TRC (Berruti et al., 2016). Apesar disso, não existe similar registrado ou testado para a mandioca, o que alerta para a necessidade de uma tecnologia similar para esta cultura, tendo em vista que a mandioca está no rank das culturas com maior dependência micorrízica para o seu pleno desenvolvimento (Miranda e Miranda, 2004), além de ser uma cultura de extrema importância para a agricultura familiar na Região Nordeste, como citado anteriormente. Vale ressaltar que a marca Rootella está em vigor na plataforma do Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI) sob número 914239830 e titularidade Groundwork BioAg Ltd., uma empresa israelense situada na cidade de HaShahar, sendo recebido, envasado no Brasil e comercializado em pequenas quantidades em valor extremamente elevado (até ~ R\$ 4 mil kg⁻¹) para um pequeno nicho de clientes selecionados. Esses fatos reforçam a necessidade de empresas brasileiras investirem no desenvolvimento de produtos e competirem com o mercado externo, buscando alternativas e novas tecnologias para uma agricultura mais sustentável. A disponibilidade de inoculantes baseados em micorrizas para mandioca favorecerá grandemente o desenvolvimento da agricultura no estado de Pernambuco. Logo, esta proposta representa o primeiro passo para a valorização do potencial comprovado dos **Fungos Micorrízicos Arbusculares** na agricultura regional, buscando introduzir com eficiência essa

tecnologia para as demais culturas com custos reduzidos, uma vez que substratos e isolados não precisarão ser importados e a tecnologia empregada buscou pela simplificação do processo.

Diante desses fatos, nossa empresa, a **INSYGRO Ciência & Tecnologia Agronômica** (lê-se “Insáigro”), atualmente sediada no município de Garanhuns (PE), lançou esta proposta com o **OBJETIVO PRINCIPAL** de “**desenvolver um produto ou tecnologia de produção de inoculante baseado em fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) para a cultura da mandioca**”, podendo contemplar outras culturas de interesse agrônomo. **Objetivos secundários:** **(A)** Extrair e identificar as principais espécies de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) associados às plantas de mandioca; **(B)** Identificar os melhores modos de capturar os FMAs e induzir a sua multiplicação em canteiros, testando diferentes **plantas-armadilha**; **(C)** Realizar o manejo químico do solo/substrato para controlar a disponibilidade de P e de outros nutrientes, favorecendo um produto (inoculante) rico em células de FMAs; **(D)** Alternativamente, testar o efeito de hormônios vegetais sintéticos e/ou induzidos e o uso de **MHB**, como *Bacillus* spp., no desenvolvimento radicular e na produção de FMAs; **(E)** Contribuir com a tecnologia de disseminação da produção de mudas “micorrizadas” de mandioca no estado de Pernambuco por meio de propagação vegetativa em sistema do tipo “*On-Farm*” ou semelhante; **(F)** Apoiar o desenvolvimento da cadeia produtiva local da mandioca no estado de Pernambuco; **(G)** Apoiar iniciativas do objetivo “Fome Zero e Agricultura Sustentável” (ODS 2) na região Agreste de PE.

3. RESUMO GERAL DA EXECUÇÃO DO PROJETO

3.1. Obtenção das plantas de mandioca

Manivas sementes de variedades locais de mandioca (“Sambaqui” e “Pai Antônio”), livres de sintomas de patógenos, foram selecionadas em propriedades candidatas para o procedimento de pré-cultivo seguido pela etapa de micropropagação vegetativa *in vitro*, além da amostragem de solo para o isolamento de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). As plantas foram previamente obtidas nos cultivos dos senhores Adeilson S. Pacheco e Adigal F. Zumba, no Município de São João, PE, ambos cooperados na Cooperativa de Agricultores Familiares (COOPAF) deste município, coordenada pelo Sr. Paulo F. Mota, todos parceiros desta iniciativa por ocasião de execução de projeto anterior (COMET AME SIN-0186-5.01/24). Posteriormente, foram coletados exemplares da variedade “Pai Antônio” em novas propriedades situadas nos municípios de Brejão e Capoeiras, PE (**Figura 1**).

Os propágulos de mandioca foram cultivados tanto em vasos quanto em canteiros para produção de mudas jovens e retirada das gemas apicais para a etapa de micropropagação vegetativa (*in vitro*). Isso objetivou a produção rápida de explantes puros e a comparação com o método tradicional, ambos direcionados para a etapa de inoculação de FMAs e testes de eficiência micorrízica *in vitro*. Esse processo foi fundamental para integrar o *pipeline* de propagação de FMAs, tendo em vista que a taxa de multiplicação da mandioca é lenta pelo método tradicional, 1:10 (de cada planta se obtém 10 manivas) a cada 10 a 12 meses, ou mais; sendo que a micropropagação *in vitro* pode fornecer uma taxa de 1:5 a cada 6 semanas apenas (Hora et al., 2014). Tanto o isolamento de esporos micorrízicos quanto os protocolos de micropropagação vegetativa foram realizados no Laboratório de Biotecnologia da **INSYGRO**, no município de

Garanhuns-PE, inicialmente utilizando câmaras incubadoras de germinação com fotoperíodo adquirida com recurso deste projeto e contrapartidas da empresa (**Figuras 3 e 4**).

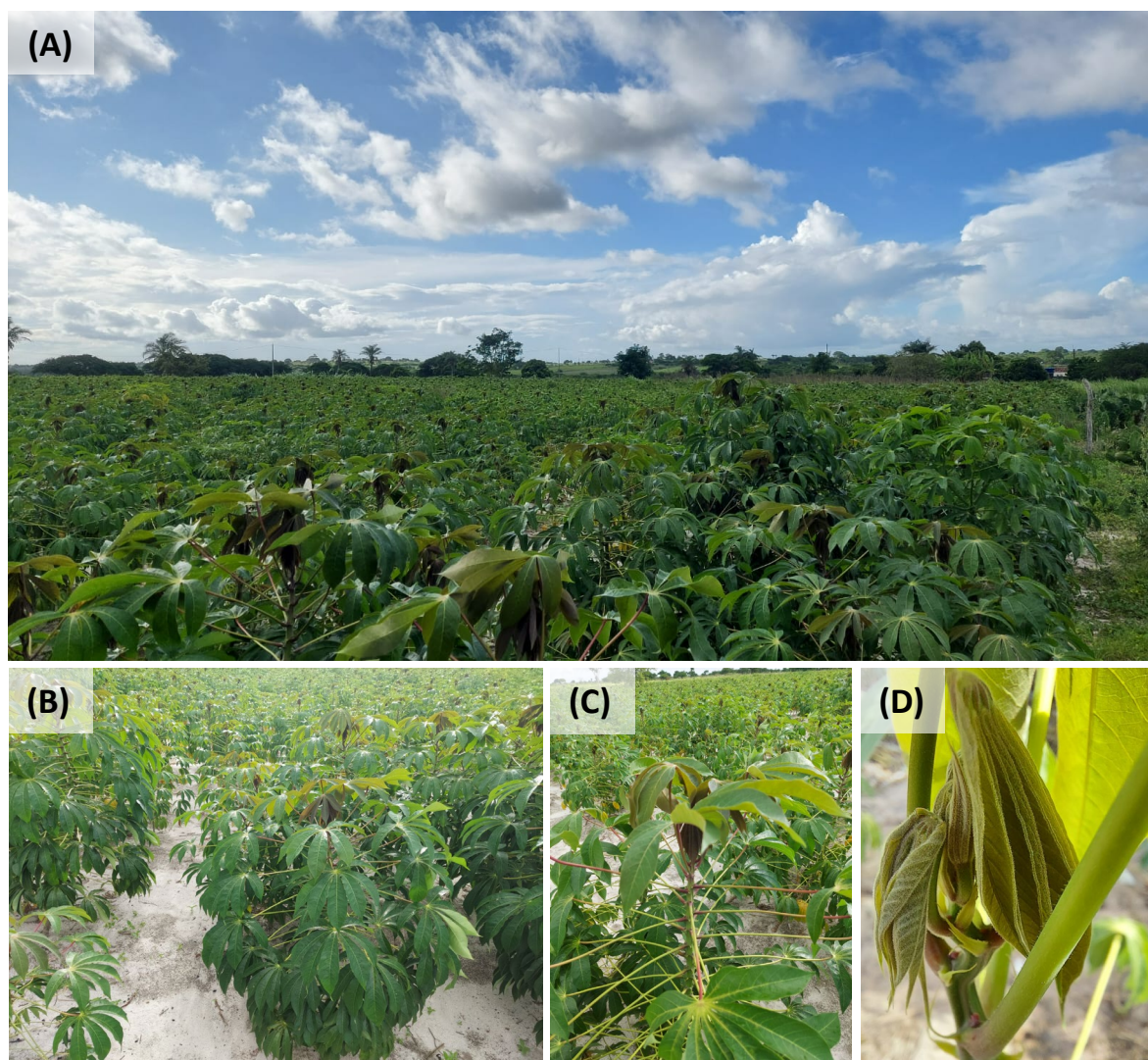


Figura 1. Imagens de área de produção de mandioca (variedade “Pai Antônio”) no município de Capoeiras, PE. **(A)** Visão geral da área de produção; **(B-C)** Detalhamento do espaçamento, solo cultivado e porte da variedade; **(D)** Detalhamento da parte apical coletada para plantio em vasos e canteiros e para obtenção da gema apical e posterior utilização no processo de micropropagação vegetativa *in vitro*.

3.2. Obtenção de esporos e multiplicação de FMAs

Os esporos de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) inicialmente foram obtidos tanto da rizosfera de plantas de mandioca quanto das pastagens mencionadas anteriormente, com rica densidade de esporos de acordo com contagem em câmara de Neubauer (~ 100 a 500 esporos 100 g^{-1} de solo), sendo essas últimas reconhecidamente ótimas “plantas armadilha” para esses fungos. A extração de esporos de FMAs de amostras de solo/rizosfera de mandioca e pastagens via peneiramento úmido foi feita homogeneizando cuidadosamente a amostra de solo para garantir representatividade. Em seguida, uma quantidade determinada de solo foi suspensa em água destilada ou deionizada, agitando-se vigorosamente para desagregar as partículas e liberar os esporos aderidos. Esta suspensão foi então passada através de uma

série de peneiras com aberturas de malha decrescente, começando com uma malha mais grossa (ex: 1,0 mm ou 0,5 mm) para reter detritos maiores e raízes, e progredindo para malhas mais finas (ex: 250 μ m, 106 μ m e 45 μ m), lavando-se abundantemente cada peneira com água para garantir a passagem dos esporos. O material retido em cada peneira fina foi transferido para béqueres, onde se deixa decantar os esporos por alguns minutos, descartando-se o sobrenadante. Para uma purificação adicional, o sedimento concentrado, obtido após a decantação, foi transferido para tubos de centrifugação (**Figura 2A**). Nesses tubos, adiciona-se uma solução de sacarose com concentração específica (ex: 50-70% p/v), e a mistura é homogeneizada suavemente. Os tubos foram então submetidos à centrifugação em um equipamento adequado (ex: a 2000 rpm por 5-10 minutos, **Figura 2B**). Durante esse processo, os esporos de FMAs, por possuírem maior densidade, sedimentam no fundo do tubo ou formam uma camada definida na interface da solução de sacarose, enquanto a matéria orgânica mais leve e detritos flutuam no sobrenadante (**Figura 2C**). Após a centrifugação, o sobrenadante foi cuidadosamente descartado por inversão ou aspiração, e a camada ou o sedimento de esporos é coletado (geralmente por pipetagem). Para eliminar os resíduos de sacarose, os esporos coletados foram então lavados repetidamente com água destilada ou deionizada, com novas etapas de centrifugação leve para concentrá-los novamente. Finalmente, os esporos purificados são transferidos para placas de Petri com água destilada ou deionizada, prontos para contagem e análise sob microscópio óptico convencional ou estereoscópico (**Figuras 2D-E**).

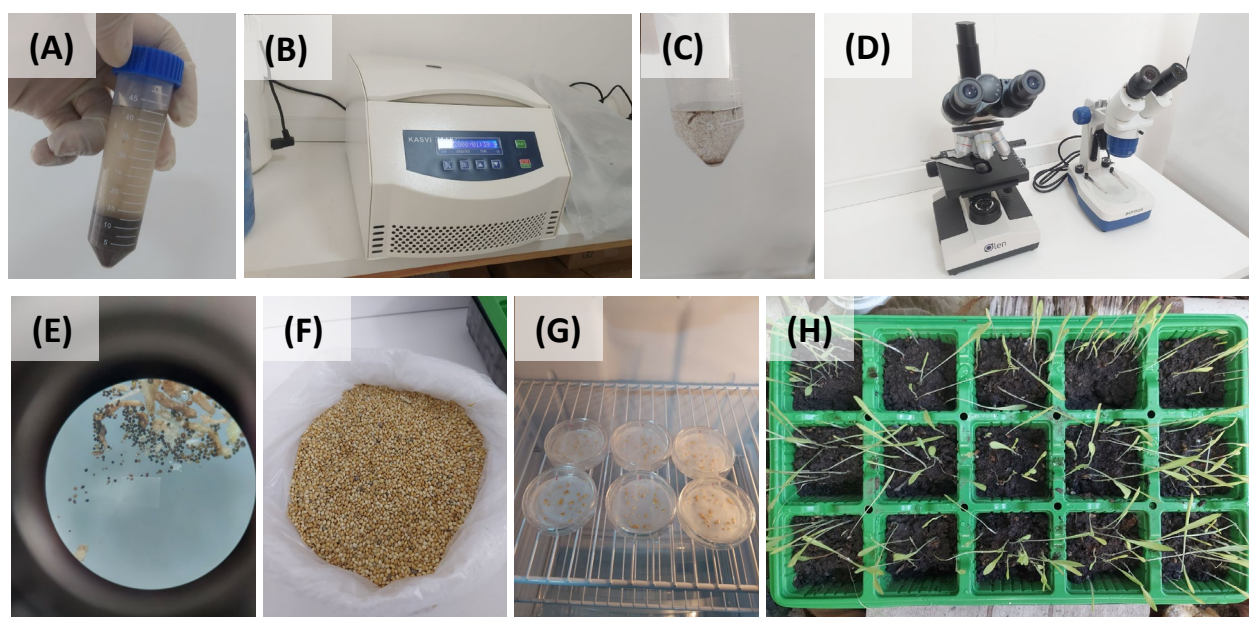


Figura 2. Procedimentos gerais para enriquecimento de substrato com esporos viáveis de FMAs. (A) tubo contendo solo de ambiente natural rico em esporos de FMAs; (B) Processo de centrifugação de esporos após peneiramento por via úmida; (C) Esporos de FMAs resuspendidos; (D-E) Contagem, identificação e separação de esporos viáveis via microscopia; (F-G) Multiplicação de FMAs via sementes de *Setaria itálica*; (H) enriquecimento de esporos de FMAs via produção de *Brachiaria decubens* em substrato especial formulado pela **INSYGRO**.

Atualmente, a metodologia de multiplicação dos esporos de FMAs selecionados está em desenvolvimento, passando por diversos processos de otimização com a finalidade de gerar um produto ou procedimento que possa ser entregue a realidade do campo. A depender do grau de inovação e de registros prévios presentes no banco de dados do INPI (e outros internacionais), a empresa visa depositar uma patente

deste produto/processo visando a proteção do segredo industrial. Por hora, testes estão continuamente sendo avaliados utilizando algumas espécies vegetais como plantas armadilhas, destacando a inoculação de FMAs em painço (*Setaria italica*, **Figuras 2E-G**) e na rizosfera de *Brachiaria brizanta*, utilizando substrato especial formulado pela **INSYGRO** (**Figura 2H**).

3.3. Desenvolvimento de protocolo de micropropagação vegetativa da mandioca

O protocolo de micropropagação da mandioca foi baseado no proposto pela Embrapa Mandioca e Fruticultura, onde já vem sendo feita há mais de 25 anos para atender o Projeto Reniva no Estado da Bahia, descrito em detalhes por Hora et al. (2014). Após as etapas de estabelecimento, multiplicação e enraizamento, que estão em andamento, as mudas serão seguirão para etapa de condicionamento em condições de casas de vegetação ou canteiros da **INSYGRO**, em sítio situado no município de Brejão-PE. Após esta etapa, as mudas estarão prontas para comercialização, se esperando obter plantas livres de patógenos e associadas com as micorrizas produzidas por esta iniciativa. Nesta propriedade estão sendo cultivadas plantas de mandioca pela via tradicional (oriundas de manivas com ao menos duas gemas e isentas de patógenos, diâmetros entre 20 e 25 mm) para servirem de “plantas armadilha” atraindo FMAs naturais do solo por propagação tradicional, utilizado manivas com duas gemas e isentas de patógenos, com diâmetros entre 20 e 25 mm. Esta propriedade também conta com pastagens compostas pelos gêneros *Brachiaria* spp., além do capim pangola (*Digitaria eriantha*), cujos solos foram pouco revolvidos e manejados ao longo de décadas, sendo fontes abundantes de FMAs utilizados neste projeto.

Inicialmente, o protocolo de produção de explantes de mandioca da **INSYGRO** faz uso de duas vias, uma indireta e outra direta. Na indireta, plantas de mandioca (u outras espécies) são crescidas em vasos para produção de brotos (**Figura 3A**). Na direta, as gemas apicais são coletadas diretamente de plantas no campo (**Figura 3B**). Essa abordagem conferiu maior flexibilidade e rapidez nas atividades laboratoriais de multiplicação. As ‘pontas’ das plantas são então cortadas e tamanhos entre 1-2 cm e levadas para capela de fluxo laminar (**Figura 3C-D**) para o processo desinfecção superficial nesta sequência: (1) lavagem em álcool 10% 1 min; lavagem em água destilada autoclavada deionizada por 15 segundos; lavagem em hipoclorito de sódio por 3 min; três lavagens consecutivas em água destilada autoclavada deionizada por 5 s cada. Em seguida, as gemas são cuidadosamente excisadas em ambiente e com ferramenta totalmente estéreis, extraindo o ápice caulinar com tamanhos de até 0,5 mm para (**Figura 3E**). Em seguida, os explantes são transferidos para tubos de ensaio em vidro contendo cerca de 2-3 mL de meio de cultivo MS (Murashige e Skoog) enriquecido com vitaminas, sacarose, de hormônios vegetais em formulação adaptada da EMBRAPA com modificações da **INSYGRO**. As plantas inicialmente são mantidas em fotoperíodo de 16 horas em incubadoras BOD sob 27 ± 1 °C durante os primeiros dias (**Figura 2F**). Após início do desenvolvimento celular, são transferidas para estante de incubação projetada pela **INSYGRO** (com fluxo de fótons de $\sim 22 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em sala climatizada em condições semelhantes (**Figura 3G**). Nessas condições, as plantas são induzidas ao desenvolvimento acelerado do sistema radicular para seguir com a etapa de micorrização (**Figura 3H**), sendo um processo exclusivamente desenvolvido e trabalhado pela **INSYGRO**, que será mais bem apresentado no relatório final em decorrência do cumprimento de outras etapas previstas no cronograma deste projeto.

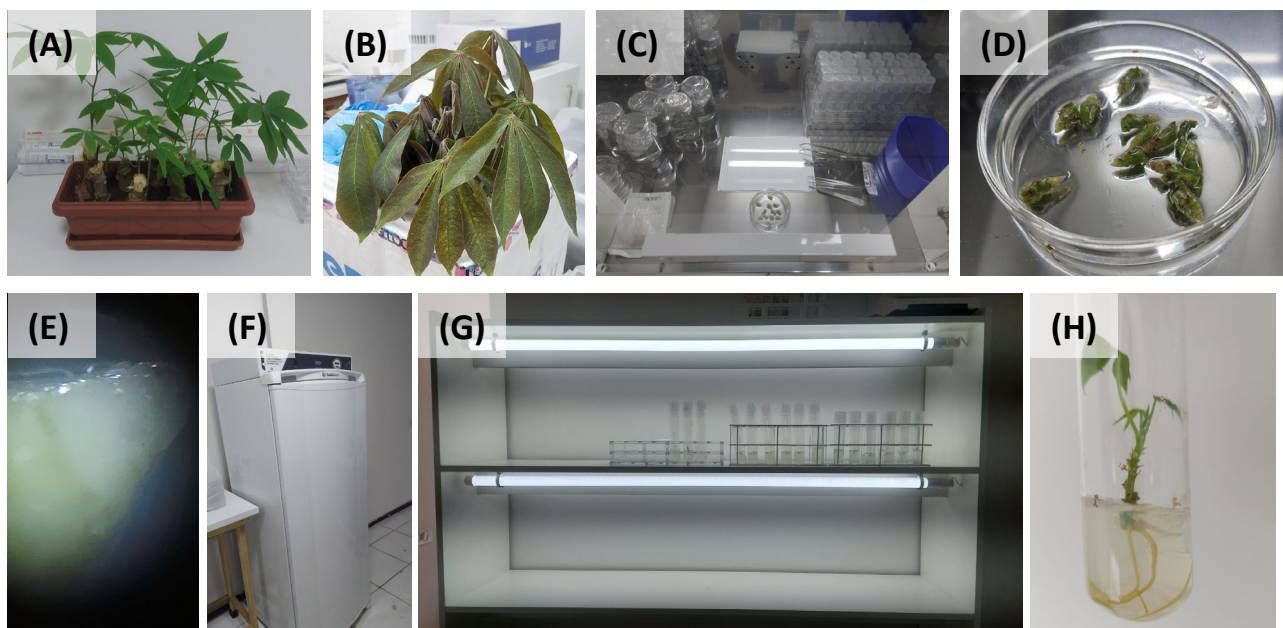


Figura 3. Rotina geral do processo de produção de explantes puros de mandioca. (A) plantas micropropagadas em vasos por método convencional via manivas; (B) Parte aérea de plantas de mandioca contendo gema apical para uso no protocolo de micropropagação; (C) Ambiente estéril câmara de fluxo laminar com alguns materiais necessários para o procedimento no laboratório da INSYGRO; (D) parte apical das plantas já desinfetadas; (E) fotografia microscópica de gema apical utilizada no meio MS-INSYGRO; (F) Câmara de cultivo do tipo BOD; (G) Modelo de estante de cultivo projetada pela INSYGRO; (H) Explante de mandioca em meio MS-INSYGRO com crescimento radicular acelerado após cerca de 45 dias.

4. RESULTADOS OBTIDOS

O projeto da INSYGRO, focado no desenvolvimento de um inoculante à base de Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs) para a cultura da mandioca, tem demonstrado progressos significativos em suas etapas iniciais, conforme detalhado neste relatório parcial. Os resultados obtidos até o momento não apenas solidificam a base técnica para o produto, mas também reforçam a viabilidade e o potencial de impacto da solução proposta.

4.1. Obtenção e Micropropagação de Plantas de Mandioca

Uma das etapas cruciais para o sucesso do projeto é a garantia de um suprimento constante de mudas de mandioca sadias e geneticamente puras para os estudos de micorrização. Nesse sentido, foram realizadas expedições de campo e estabelecidos protocolos robustos para a obtenção e propagação de material vegetal:

- **Seleção e Coleta de Variedades Locais:** Manivas-sementes das variedades locais "Sambaqui" e "Pai Antônio", livres de sintomas de patógenos, foram selecionadas em propriedades de agricultores parceiros da Cooperativa de Agricultores Familiares (COOPAF) no município de São João, PE. Posteriormente, novas coletas da variedade "Pai Antônio" foram realizadas em Brejão e Capoeiras, PE, ampliando a base genética para estudos e prospecções futuras.

- **Desenvolvimento de Protocolos de Micropropagação Vegetativa:** A INSYGRO adaptou e implementou um protocolo de micropropagação da mandioca baseado nas diretrizes da Embrapa Mandioca e Fruticultura (Hora et al., 2014). Este processo, realizado no Laboratório de Biotecnologia da INSYGRO em Garanhuns, PE, visa a produção rápida de explantes puros. A micropropagação in vitro oferece uma taxa de multiplicação significativamente superior (1:5 a cada 6 semanas) em comparação com o método tradicional (1:10 a cada 10-12 meses), o que é fundamental para a escalabilidade da produção de mudas micorrizadas.
- **Otimização da Produção de Explantes:** A rotina de produção de explantes puros de mandioca na INSYGRO utiliza tanto uma via indireta (plantas cultivadas em vasos para produção de brotos) quanto uma via direta (coleta de gemas apicais diretamente do campo). Essa abordagem flexível e rápida inclui um rigoroso processo de desinfecção superficial e excisão cuidadosa do ápice caulinar. Os explantes são cultivados em meio MS (Murashige e Skoog) enriquecido, com formulação adaptada pela INSYGRO, e mantidos em condições controladas de fotoperíodo e temperatura em câmaras incubadoras e estantes de cultivo projetadas pela própria empresa (**Figuras 3F e 3G**).
- **Aceleração do Desenvolvimento Radicular:** Um processo exclusivo desenvolvido pela INSYGRO tem induzido o desenvolvimento acelerado do sistema radicular dos explantes de mandioca (**Figura 3H** do relatório parcial). Este avanço é de suma importância, pois um sistema radicular robusto é essencial para o sucesso da micorrização e para a posterior etapa de condicionamento das mudas em casas de vegetação ou canteiros.

4.2. Obtenção e Multiplicação de Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs)

Paralelamente à produção de mudas, o projeto avançou na obtenção e no desenvolvimento de metodologias para a multiplicação dos FMAs:

- **Extração de Esporos de FMAs:** Esporos de FMAs foram obtidos tanto da rizosfera de plantas de mandioca quanto de pastagens, reconhecidas como excelentes "plantas armadilha" devido à sua alta densidade de esporos. A extração foi realizada por peneiramento úmido e centrifugação em solução de sacarose, seguida de purificação e contagem em câmara de Neubauer (**Figuras 2A-E** do relatório parcial). Isso permitiu a rápida obtenção de material para o protótipo de fabricação.
- **Desenvolvimento de Metodologia de Multiplicação:** A metodologia para a multiplicação dos esporos de FMAs selecionados está em contínuo desenvolvimento e otimização. Testes preliminares estão sendo conduzidos utilizando espécies vegetais como plantas armadilhas, incluindo painço (*Setaria italica*) e *Brachiaria brizanta*, cultivadas em substrato especial formulado pela INSYGRO (**Figuras 2F-H**). O objetivo é gerar um produto ou procedimento que seja economicamente viável e aplicável em campo, com potencial para depósito de patente visando a proteção do segredo industrial.
- **Manejo do Solo/Substrato:** O projeto contempla o manejo químico do solo/substrato para controlar a disponibilidade de fósforo (P) e outros nutrientes, visando favorecer a produção de um inoculante rico em células de FMAs. A utilização de solução nutritiva isenta de P (Hoogland e Arnon, 1950) tem

sido monitorada para estimular a produção de esporos de FMAs em substrato desenvolvido pela INSYGRO.

4.3. Geração de Conhecimento Científico e Tecnológico e Impacto Estratégico

Os avanços do projeto não se limitam apenas ao desenvolvimento do produto, mas também abrangem a geração de conhecimento e o fortalecimento da estrutura da INSYGRO, com reflexos diretos na capacidade de execução deste e de futuros projetos:

- **Apoio à Pesquisa Acadêmica:** A INSYGRO tem demonstrado um forte compromisso com a pesquisa de base, apoiando iniciativas acadêmicas. Um exemplo notável é o suporte a uma pesquisa de Mestrado na UFPE, focada no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* em feijão utilizando extratos de plantas do Semiárido. Embora de um projeto distinto, essa colaboração ressalta a capacidade da INSYGRO em fomentar a inovação e a transferência de tecnologia, criando um ambiente propício para o desenvolvimento de soluções biológicas, incluindo o inoculante de FMAs.
- **Fortalecimento da Infraestrutura e Localização Estratégica:** A mudança da sede do Laboratório de Biotecnologia e Inovação Tecnológica (LABINTEC) da INSYGRO de Capoeiras para Garanhuns, PE, foi uma decisão estratégica que otimizou a logística e a proximidade com parceiros-chave, como a COOPAF, UFPE e IFPE. Essa ampliação da infraestrutura do LABINTEC, também impulsionada pelos recursos do edital COMPET Soluções (SIN-0186-5.01/24), elevou a capacidade da empresa para conduzir pesquisas e desenvolver produtos inovadores.
- **Criação da Biofábrica INSYGRO:** Como resultado direto do fortalecimento da infraestrutura, está em andamento a criação da "BIOFÁBRICA INSYGRO" em Garanhuns. Esta biofábrica será o centro para o desenvolvimento e produção em escala de novos produtos biológicos, incluindo o inoculante de FMAs, e representa um marco para a região, com potencial para geração de empregos e atração de novas tecnologias.
- **Processos de Registro e Regulamentação:** A INSYGRO está ativamente engajada nos processos de registro legal de seus produtos e processos junto aos órgãos competentes, como o Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) e o IBAMA. Embora o foco inicial tenha sido o produto FertExtrat (de outro projeto), essa experiência e o estabelecimento de assessorias especializadas (como "Regulariza Certo Serviços Empresariais Ltda" e "Mb Protege Extintores") são cruciais para a futura comercialização do inoculante/produto de FMAs, garantindo que o produto atenda a todas as exigências regulatórias.
- **Inovação e Escalabilidade:** O projeto do inoculante de FMAs para mandioca, codificado como "INSYGRO-X", encontra-se em estágio intermediário de desenvolvimento (TRL/MRL entre 4 e 6), com o objetivo de alcançar o nível 9 até a conclusão. A tecnologia visa ser disruptiva, preenchendo uma lacuna no mercado brasileiro para a cultura da mandioca, que possui alta dependência micorrízica. A versatilidade simbiótica dos FMAs com diversas espécies vegetais (Bhantana et al., 2021) confere ao produto uma alta escalabilidade para outras culturas de relevância agronômica, como feijão, milho, batata, soja e algodão.

- **Viabilidade Técnica e Econômica:** Ao longo do desenvolvimento da proposta, a INSYGRO desenvolveu tanto em estrutura quanto em conhecimento técnico, necessários para a execução do projeto, com apoio de instituições parceiras (UFAPE, COOPAF, etc). A importância da mandioca para a economia local e a necessidade de métodos mais eficazes para a propagação de mudas livres de patógenos e o aumento da taxa de micorrização, especialmente em solos com baixa fertilidade e sob estresse hídrico no Agreste de Pernambuco, indicam uma grande oportunidade de mercado.
- **Alinhamento com os ODSs:** O projeto está intrinsecamente alinhado com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODSs) da ONU, em particular o ODS 2 ("Fome Zero e Agricultura Sustentável"), ODS 12 ("Consumo e Produção Responsável") e ODS 17 ("Parcerias e Meios de Implementação"). A proposta busca introduzir uma tecnologia que promove a agricultura sustentável, reduzindo a dependência de insumos químicos e valorizando o potencial biológico do solo.

4.4. Perspectivas e Próximos Passos

Os resultados apresentados neste relatório são parciais e refletem os avanços iniciais de um projeto complexo e de longo prazo. As atividades futuras se concentrarão na identificação taxonômica dos fungos micorrízicos, na otimização das culturas armadilha, no preparo de inóculos de FMAs em canteiro, na avaliação da eficácia do produto em campo e na análise de sustentabilidade para o desenvolvimento de um produto e/ou patente. A combinação da técnica de micropropagação vegetativa da mandioca com o cultivo micorrízico representa uma alternativa inovadora e pouco explorada na agricultura brasileira, sendo o produto principal a ser desenvolvido pela INSYGRO neste projeto. Mais detalhes sobre a eficácia em campo, a formulação final do inoculante e os resultados completos das etapas de pesquisa e desenvolvimento serão apresentados no relatório final, após a conclusão integral do projeto.

5. CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO

Quadro 1. Cronograma físico-financeiro aprovado.

Atividades/Meses (a partir da implementação)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. Pesquisa bibliográfica, planejamento e expedições em campo para coleta de propágulos vegetativos, extração e obtenção de fungos.	X	X	X			X	X					
2. Seleção e preparação das cultivares de mandioca e testes iniciais para otimização de protocolos de micropropagação vegetativa <i>in vitro</i> e inoculação.		X	X	X	X	X	X					
3. Monitoramento dos cultivos, análise de dados e elaboração do relatório parcial.					X	X	X					
4. Testes de adaptação das plântulas às condições de viveiro, protocolos em campo e prototipagem.						X	X	X	X	X		
5. Análises de dados e financeiras e avaliação da sustentabilidade do processo de micropropagação.								X	X	X	X	
6. Elaboração de proposta de comercialização e determinação do Produto Viável Mínimo (MVP).										X	X	X
7. Ajustes definitivos da tecnologia, divulgação e relatório final.											X	X

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

MÊS DE ATIVIDADE EXECUTADO	MÊS E ANO DE REFERÊNCIA	META PACTUADA	PERCENTUAL ATENDIDO DA META ^(a)
1º Mês	Ago-Set/2024	Expedições rurais, coletas de materiais, pesquisas, experimentação. Seleção, obtenção e/ou cultivo das plantas de mandioca e coleta de esporos de FMAs.	100%
2º Mês	Set-Out/2024		
3º Mês	Out-Nov/2024	Protocolos de micropropagação vegetativa variedades de mandioca.	100%
4º Mês	Nov-Dez/2024	Continuidade de atividades do 3º mês + Protocolos de obtenção multiplicação de esporos de FMAs e desenvolvimento de protocolo/substrato INSYGRO.	100%
5º Mês	Dez/24-Jan/25	Continuidade de atividades do 4º mês + Monitoramento dos cultivos, análise de dados e elaboração do relatório parcial.	100%
6º Mês	Jan-Fev/2025	Continuidade de atividades do 5º mês + Testes de adaptação das plântulas às condições de viveiro e prototipagem.	100%

(*) Período abrangido ao longo dos seis primeiros meses de execução (21/08/2024 e 20/02/2025).

(a) As atividades referentes ao 2º semestre estão em curso e serão detalhadas apenas no relatório final.

6. INDICADORES DOS AVANÇOS REALIZADOS

Quadro 3. Quadro de métricas quantificáveis de acompanhamento.

Métrica	Descrição
Produtos/Serviços/Processos Desenvolvidos ou Melhorados	<i>Apresentação de produto INSYGRO, auxiliador de micorrização na mandioca, com grande potencial de escalar para outras culturas e regiões. A empresa pretende assessorar produtores para melhorias na cadeia produtiva da mandioca em PE.</i>
Empregos e Oportunidades Gerados	<i>Estamos considerando contratar estagiários e funcionários quando concluirmos o produto/processo para conseguir suprir a demanda estimada. A venda de mudas micropropagadas isentas de doenças é uma atividade comercial inovadora, lucrativa e ausente na região Agreste de PE. Além disso, a INSYGRO tem apoiado atividades acadêmicas, como na UFPE, onde nossos projetos, associados a esta presente proposta, já apoiaram o desenvolvimento da dissertação (Mestrado) intitulada: “Bioprospecção de óleos essenciais de plantas do Semiárido no manejo de Sclerotinia sclerotiorum na cultura do feijão”, orientada pela Profa. Dra. Kedma Maria Silva Pinto.</i>
Propriedades Intelectuais Geradas	<i>Relatório do produto/processo em andamento.</i>
Outros (especificar)	<i>Estamos em diálogo com Maciel Alves Tavares Consultor, Técnico e Gerente de Programas Agrícolas da Prefeitura de Caruaru-PE, combinando negócios divulgações dos nossos produtos em breve, incluindo Treinamento ou capacitação de agricultores locais; Realização de “Capacitação em Campo”; Promoção de melhorias do cultivo, produtividade e qualidade da mandioca; Divulgação das nossas tecnologias.</i>

7. COMENTÁRIOS GERAIS E PERSPECTIVAS

7.1. Detalhamento de atividades futuras (pretendidas)

a. Identificação dos fungos micorrízicos: Os FMAs de interesse agrônomo poderão ser devidamente identificados com base nas características morfológicas de seus esporos com o apoio de parceiros especialistas do Laboratório de Classificação Taxonômica de Fungos, sob coordenação do Prof. Dr. André L. C. M. A. Santiago, no Departamento de Micologia do Centro de Biociências da UFPE (Recife). O Prof. Dr. Arthur Prudência de Araújo Pereira (Depto. De Ciência do Solo, UFC, Ceará), especialista em FMAs.

b. Culturas armadilha dos esporos de FMAs: Plantas armadilhas, especialmente *Brachiaria brizanta*, serão utilizadas como o principal meio de recrutamento e multiplicação prévios de FMAs, servindo de apoio para o desenvolvimento de mudas micropropagadas de mandioca micorrizadas com espécies diversas de FMAs.

c. Preparo de inóculos de FMAs e multiplicação em canteiro: Os explantes ou propágulos de mandioca e as sementes das plantas-armadilha serão inoculadas exclusivamente com FMAs, não mais optando pelo uso de bactérias auxiliares de micorriza (*Mycorrhiza Helper Bacteria* - MHB) para auxiliar no desenvolvimento da micorrização, pois este processo se mostrou economicamente e tecnicamente muito oneroso e desnecessário para nossos objetivos neste momento. Outros produtos estão sendo testados no desenvolvimento de substratos estimulantes do crescimento radicular e multiplicação micorriza em associação com raízes de mandioca, tendo em vista que esses mecanismos podem proporcionar aumento na produtividade em viveiro e menor tempo de produção mudas (Almeida et al., 2014). Também estão sendo testados a composição nutricional, temperatura de cultivo, umidade e outros parâmetros dos substratos e meios de cultivo. Alternativamente, estão sendo avaliados substratos alternativos abundantes como subprodutos de atividades agropecuárias do estado, se destacando bagaço-de-cana, casca queimada de arroz, biochar, entre outros, em associação com argila expandia e vermiculita, a depender da viabilidade econômica do produto (definitivo). A produção de FMAs em vasos será uma atividade continuada, tendo em vista as boas taxas de multiplicação avaliadas por procedimentos de contagens de esporos por técnicas microscópicas utilizando câmara de Neubauer. O uso de solução nutritiva isenta de P (Hoogland e Arnon, 1950) também tem sido monitorado, mantendo as necessidades nutricionais das plantas e estimulando a produção de esporos de FMAs em substrato desenvolvido pela INSYGRO. Diante disso, a **combinação da técnica de micropropagação vegetativa da mandioca com o cultivo micorrízico** tem se mostrado como uma alternativa inovadora e pouco explorada na agricultura brasileira, sendo o **produto principal** da INSYGRO a ser desenvolvido neste projeto. Como resultado, outras culturas poderão ser beneficiadas, almejando também comercializar mudas a partir do processo de multiplicação em ambiente estéril (*in vitro*), havendo grande potencial para a produção de abacaxi, banana, eucalipto, café, orquídeas e muitas outras.

d. Avaliação da eficácia do produto na cultura (mandioca): O produto desenvolvido será testado em campo utilizando plantas micropropagadas de mandioca associadas com micorrizas, onde serão definidos os protocolos de dosagem, modo de aplicação, fase da cultura e tipo de propagação das plantas. Os ensaios serão estabelecidos em duas vias: **(A)** a primeira será através de mudas de mandioca micropropagadas com FMAs; **(B)** a segunda será através de manivas sementes tratadas com substrato enriquecido com FMAs, provisoriamente codificado como “**INSYGRO-X**”.

e. Avaliação da sustentabilidade e desenvolvimento de produto, processo e/ou patente: No final deste projeto será realizada a análise de sustentabilidade do produto e processo de multiplicação de FMAs e de explantes micorrizados de mandioca. Baseada nos protocolos descritos, a INSYGRO pretende apresentará o(s) produto(s) e processo(s) desenvolvido(s) para aumentar a micorrização e a produtividade da mandioca, bem como fornecer mudas livres de patógenos que acometem os cultivos da região por falta de um protocolo rigoroso de controle integrado. A depender do sucesso do produto, procedimentos legais serão adotados para proteger a propriedade intelectual juntamente ao INPI, garantindo os direitos de comercialização do produto.

f. Divulgação e Implementação: Os resultados do projeto serão divulgados para a comunidade local e para os agricultores através de workshops e/ou materiais educativos organizados pela INSYGRO. Espera-se que

este projeto resulte em um método mais eficaz e sustentáveis para o desenvolvimento do processo de micorrização nas raízes de mandioca, garantindo a produtividade das plantas e a segurança alimentar dos agricultores, principalmente na Região Agreste do estado de Pernambuco.

8. RESUMO DA EXECUÇÃO FINANCEIRA

8.1. Detalhamento de desembolsos e execução

Quadro 4. Quadro geral de desembolso financeiro.

ITENS APOIADOS	VALOR APROVADO	VALOR EXECUTADO	SALDO
Despesas de Capital (equipamentos permanentes)	R\$ 24.500,00	R\$ 24.017,17	+R\$ 482,83
Despesas de Custeio (reagentes, vidrarias e outros)	R\$ 5.500,00	R\$ 3.807,35	+R\$ 1.692,65
Despesas de Custeio (Serviços de terceiros PJ)	R\$ 0,00	0,00	R\$ 0,00
Diárias	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00
TOTAL DE RECURSOS FACEPE	R\$ 30.000,00	R\$ 27.824,52	R\$ 2.175,48
CONTRAPARTIDA FINANCEIRA	R\$ 1800,00	R\$ 0,00	+R\$ 1800,00
RENDIMENTOS DE APLICAÇÃO FINANCEIRA	-	-	-
TOTAL GERAL	R\$ 31.800,00	R\$ 27.824,52	+R\$ 3.975,48

(*) Excluindo a contrapartida financeira da INSYGRO, cerca de 92,7% do recurso total aprovado pela FACEPE (R\$ 30.000,00) foram utilizados até o momento.

8.2. Contrapartida financeira

A **INSYGRO** ofereceu uma contrapartida financeira de R\$ 1.800,00 (Um Mil e Oitocentos Reais), correspondente a 6% do valor total subsidiado, a serem aplicados até a conclusão deste projeto, destinado ao custeio de reagentes químicos diversos, substratos e demais vidrarias e materiais plásticos necessários para o cultivo das mudas e outros itens relevantes. Além disso, a INSYGRO colaborará com infraestrutura, pessoal, equipamentos, área experimental (em município de Brejão, PE), todos destinados para o apoio desta proposta.

9. REFERÊNCIAS

- AKIYAMA, K., et al. (2005). Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature*, 435:824-827.
- ALMEIDA, J.P.N., et al. (2014). Fungo micorrízico arbuscular e extrato de algas no crescimento inicial de porta-enxerto de aceroleira. *Rev. Cienc. Agrar.*, 57: 22-28.
- BERRUTI, A., et al., (2016). Arbuscular Mycorrhizal Fungi as Natural Biofertilizers: Let's Benefit from Past Successes. *Front. Microbiol.* 6:1559.
- BESSERER, A., et al., (2006). Strigolactones stimulate arbuscular mycorrhizal fungi by activating mitochondria. *PLoS Biol.*, 4:1241-1247.
- BHANTANA, P., et al. (2021). Arbuscular mycorrhizal fungi and its major role in plant growth, zinc nutrition, phosphorous regulation and phytoremediation. *Symbiosis*. 84:19-37.
- BONFANTE, P.; LANFRANCO, L. (2019). The mycobiota: fungi take their place between plants and bacteria. *Curr Opin Microbiol* 49: 18–25

- CEBALLOS, I., et al. (2013). The In Vitro Mass-Produced Model Mycorrhizal Fungus, *Rhizophagus irregularis*, Significantly Increases Yields of the Globally Important Food Security Crop Cassava. *PLoS One* 8(8): e70633.
- DIOP, T.H. (2023). In vitro culture of arbuscular mycorrhizal fungi: advances and future prospects. *African Journal of Biotechnology* 2: 692-697.
- 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 (2022). 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.
- FREY-KLETT, P., et al. (2007). The mycorrhiza helper bacteria revisited. *New Phytologist*, 176: 22-36.
- FUKUDA, C. (1986). Doenças da mandioca. In: CURSO INTENSIVO NACIONAL DE MANDIOCA, 6., 1986, Cruz das Almas. Cruz das Almas: Embrapa, CNPMF, 27p.
- GARCIA, L.F.; ALMEIDA, R.T. (1987). Comportamento da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz Cv. olho verde) em relação à inoculação de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares. *Ciê. Agron. Fortaleza*, 18 (1): 1-8.
- HOBBIE, J.E., HOBBIE, E.A. (2006). ¹⁵Nin symbiotic fungi and plants estimates nitrogen and carbon flux rates in Arctic tundra. *Ecology* 87: 816–822.
- HOOGLAND, D.C.; ARNON, D.I. (1950). The water culture method of growing plants without soil. Berkeley: University of California, 32 p.
- HORA, R.L.A.C., et al. (2014) Micropropagação da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz): uma técnica consolidada para a multiplicação *in vitro* de variedades. In: JORNADA CIENTÍFICA EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA, 8., 2014, Cruz das Almas, Ba. Pesquisa: despertando mentes para a inovação e transformando o futuro: [anais]. Cruz das Almas, BA.
- 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 (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.
- KOKKORIS, V.; HART, M. (2019) In vitro Propagation of Arbuscular Mycorrhizal Fungi May Drive Fungal Evolution. *Front. Microbiol.* 10:2420.
- LEAKE, J.R., et al. (2004). Networks of power and influence: the role of mycorrhizal mycelium in controlling plant communities and agroecosystem functioning. *Canadian Journal of Botany* 82: 1016–1045.
- LEAL, P.L., et al. (2016). Enrichment of arbuscular mycorrhizal fungi in a contaminated soil after rehabilitation. *Braz J Microbiol*, 47(4):853-862.
- LEBOT, V. (2020). Cassava: pests and diseases. *Tropical Root and Tuber Crops: Cassava, Sweet Potato, Yams and Aroids*, 73–88.
- MARZEC, M., et al. (2015). Root Hair Development in the Grasses: What We Already Know and What We Still Need to Know, *Plant Physiology*, 168(2): 407–414.
- MIRANDA, J.C.C.; MIRANDA, L.N. (2004). Dependência micorrízica de diferentes culturas anuais, adubos verdes e pastagens em solos de Cerrado. EMBRAPA Cerrados, Comunicado Tec., 114:1-3.
- MORDOR INTELLIGENCE (2024). Tamanho do mercado de biofertilizantes de micorriza e análise de participação – Tendências e previsões de crescimento (2024 – 2029) Source: <https://www.mordorintelligence.com>. Acessado em 19 de maio de 2024.
- NAHUELCURA, J., et al. (2022). The effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the phenolic compounds profile, antioxidant activity and grain yields in wheat cultivars growing under hydric stress. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.102(1):407-416.
- 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.
- POVEDA, J., et al. (2020). Biological control of plant-parasitic nematodes by filamentous fungi inducers of resistance: *Trichoderma*, mycorrhizal and endophytic fungi. *Front. Microbiol.*11:992.
- RAMOS, R.F., et al. (2022). Associação de sucesso. *Cultivar Grandes Culturas*. v. 22, p. 37 – 39.
- RAUT, S.B., et al. (2019). On-farm Production of Arbuscular Mycorrhizal (AM) Fungi Using Trap Crop Cycles. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* 8(10): 1084-1101.
- SANTANA, L.R. (2021) Fungos micorrízicos arbusculares associados com plantas de milho: uma estratégia biotecnológica durante a seca. Orientador: Edson Luiz Souchie. 2021. 58f. Dissertação (Mestrado em Ciência Agrárias – Agronomia) – IF Goiano, Rio Verde.

- SCHUESSLER, A. (2015). System and methods for continuous propagation and mass production of arbuscular mycorrhizal fungi in liquid culture. Patent WO 2015028601 A1.
- SÉRY, D.J.M., et al. (2016). Selecting Native Arbuscular Mycorrhizal Fungi to Promote Cassava Growth and Increase Yield under Field Conditions. *Front. Microbiol.* 7:2063.
- SHARMA, K., et al. (2023). Arbuscular Mycorrhizal Fungi: Role as Biofertilizers, Technology Development, and Economics. In: Satyanarayana, T., Deshmukh, S.K. (eds) *Fungi and Fungal Products in Human Welfare and Biotechnology*. Springer, Singapore. pp 3-30.
- 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.
- SMITH, S.E., SMITH, F.A. (2011). Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystem scales. *Annual Review of Plant Biology* 62: 227–250.
- SRINIVASAN, M., et al. (2014). Establishing monoxenic culture of arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* through root organ culture. *Journal of Applied and Natural Science* 6: 290-293.
- STOFFEL, S.C.G. et al. (2020) Yield increase of corn inoculated with a comercial arbuscular mycorrhizal inoculant in Brazil. *Ciência Rural*, v. 50, n. 7.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. (2017). *Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal*. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed.
- VIVAS, A., et al. (2003), Influence of a *Bacillus* sp. on physio-logical activities of two arbuscular mycorrhizal fungi and on plant responses to PEGinduced drought stress. *Mycorrhiza*, 13 (5), 249-256.
- WALDER, F., et al. (2012). Mycorrhizal networks: common goods of plants shared under unequal terms of trade. *Plant Physiology* 159: 789–797.
- YADAV, R., et al. (2021). *Bacillus subtilis* CP4, isolated from native soil in combination with arbuscular mycorrhizal fungi promotes biofortification, yield and metabolite production in wheat under field conditions. *J Appl Microbiol.* 131(1):339-359.
- YONEYAMA, K., et al. (2001). Production of clover broomrape seed germination stimulants by red clover root requires nitrate but is inhibited by phosphate and ammonium. *Physiol. Plant.*, 112:25-30.
- 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.
- ZINATI, G., et al. (2023). *Mycorrhizal Fungi: The Colonizers, Mediators, and Protectors of the Ecosystem*. United States Department of Agriculture (USDA), RodaleInstitute, 4p.

-- INSYGRO C&T Agronômica --

Garanhuns, 20 de fevereiro 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