

Inoculação de Mudanças de Espécies Florestais com Fungos Micorrízicos Arbusculares: Avanços na Produção e Legislação



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Agrobiologia
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

DOCUMENTOS 324

Inoculação de Mudanças de Espécies Florestais com Fungos Micorrízicos Arbusculares: Avanços na Produção e Legislação

*Orivaldo José Saggin Júnior
Juliana Müller Freire
Alexander Silva de Resende
Eduardo Francia Carneiro Campello
Cristiane Figueira da Silva
Eliane Maria Ribeiro da Silva*

Embrapa Agrobiologia
Rio de Janeiro, RJ
2022

Unidade Responsável pelo conteúdo

Embrapa Agrobiologia

Rodovia BR 465, km 7
CEP 23891-000, Seropédica, RJ
Caixa Postal 74.505
Fone: (21) 3441-1500
Fax: (21) 2682-1230
www.embrapa.br/agrobiologia
www.embrapa.br/sac

**Comitê Local de Publicações
da Embrapa Agrobiologia**

Presidente

Bruno José Rodrigues Alves

Secretária-Executiva

Carmelita do Espírito Santo

Membros

*Claudia Pozzi Jantalia, Janaina Ribeiro Costa
Rouws, Luc Felicianus Marie Rouws,
Luis Cláudio Marques de Oliveira,
Luiz Fernando Duarte de Moraes, Marcia Reed
Rodrigues Coelho, Marta dos Santos Freire
Ricci de Azevedo, Nátia Élen Auras*

Unidade responsável pela edição

Embrapa Agrobiologia

Normalização bibliográfica

Carmelita do Espírito Santo CRB7/5043

Tratamento das ilustrações

Maria Christine Saraiva Barbosa

Projeto gráfico da coleção

Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica

Maria Christine Saraiva Barbosa

Foto da capa

Alexander Silva de Resende

1ª edição

Publicação digital – PDF (2022)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Agrobiologia

I158

INOCULAÇÃO de mudas de espécies florestais com fungos micorrízicos
arbusculares: avanços na produção e legislação. / Orivaldo José Saggin
Júnior... [et al.]. — Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2022.

Livro Digital. (PDF): (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 324)

ISSN 1676-6709

1. Bioinsumo. 2. Fungo. 3. Aspectos Legais. I. Saggin Júnior, Orivaldo José
II. Freire, Juliana Müller. III. Resende, Alexander Silva de. IV. Campello,
Eduardo Francia Carneiro. V. Silva, Cristiane Figueira da. VI. Silva, Eliane
Maria Ribeiro da. VII. Agrobiologia. VIII. Série.

631.46 - CDD (23. ed.).

Autores

Orivaldo José Saggin Júnior

Pesquisador da Embrapa Agrobiologia, BR 465, km 7, CEP 23891-000, Seropédica, RJ. E-mail: orivaldo.saggin@embrapa.br.

Juliana Müller Freire

Pesquisadora da Embrapa Agrobiologia, BR 465, km 7, CEP 23891-000, Seropédica, RJ. E-mail: juliana.muller@embrapa.br.

Alexander Silva de Resende

Pesquisador da Embrapa Agrobiologia, BR 465, km 7, CEP 23891-000, Seropédica, RJ. E-mail: alexander.resende@embrapa.br.

Eduardo Francia Carneiro Campello

Pesquisador da Embrapa Agrobiologia, BR 465, km 7, CEP 23891-000, Seropédica, RJ. E-mail: eduardo.campello@embrapa.br.

Cristiane Figueira da Silva

Pós-Doutoranda Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465, km 7, CEP 23891-000, Seropédica, RJ. E-mail: cfigueirasilva@yahoo.com.br.

Eliane Maria Ribeiro da Silva

Pesquisadora da Embrapa Agrobiologia, BR 465, km 7, CEP 23891-000, Seropédica, RJ. E-mail: eliane.silva@embrapa.br.

Apresentação

O texto *Inoculação de Mudanças de Espécies Florestais com Fungos Micorrízicos Arbusculares: Avanços na Produção e Legislação* apresenta o estado da arte sobre o uso de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em espécies florestais. Ao longo de mais de 3 décadas, especialistas da Embrapa Agrobiologia vem envidando esforços na disponibilização de informações técnicas visando promover o uso da inoculação de mudas de espécies florestais, especialmente em programas voltados para a restauração de áreas degradadas.

Este trabalho é fruto destas pesquisas científicas que, ao longo destes anos, possibilitaram o avanço do conhecimento na temática. As informações ora apresentadas evidenciam os benefícios provenientes da interação entre os fungos micorrízicos e as espécies florestais, conferindo maior capacidade de estabelecimento e desenvolvimento dessas plantas em áreas de baixa fertilidade e com escassez hídrica.

Por fim, a publicação analisa o ambiente institucional brasileiro apresentando os possíveis riscos atrelados à regulamentação dos bioinsumos com FMA, trazendo sugestões de aperfeiçoamento do arcabouço legal que poderão ajudar no ganho de escala e aumentar a adoção da prática da inoculação com estes fungos. A oportunidade trazida pela necessidade de descarbonização dos processos produtivos do país, por meio da restauração de áreas degradadas a partir do plantio de árvores, coloca este bioinsumo como prioritário na agenda nacional para agricultura sustentável e mudanças climáticas.

Desejo a todos uma boa leitura.

Cristhiane Oliveira da Graça Amâncio
Chefe-Geral da Embrapa Agrobiologia

Sumário

Introdução	11
Benefícios da inoculação com Fungos Micorrízicos Arbusculares	11
Produção de mudas inoculadas com FMAs	15
Resposta e dependência das espécies arbóreas à micorrização	18
Aquisição de inóculo de isolados de Fungos Micorrízicos Arbusculares do Centro de Recursos Biológicos Johanna Döbereiner (CRB-JD).....	21
Produção de inoculante micorrízico	22
Avanços na legislação sobre bioinsumos e inoculantes micorrízicos no Brasil.....	29
Considerações finais	33
Anexo 1	35
Referências bibliográficas	38

Introdução

Cerca de 1/3 dos solos do mundo estão degradados, causando problemas irreversíveis para a agricultura e geração de serviços ecossistêmicos (PENNOCK *et al.*, 2015). Estima-se que um bilhão de hectares de vegetação serão eliminados até 2050 para atender à produção global de alimentos, caso os padrões atuais de uso da terra e desmatamento continuem (Tilman *et al.*, 2011).

Visando estimular a restauração desses ecossistemas e reduzir seu impacto ambiental, a ONU estabeleceu a Década da Restauração de Ecossistemas, a qual se iniciou em 2021. Essa iniciativa tem a meta global de restaurar 350 milhões de hectares até 2030 (PNUMA, 2019). No caso do Brasil, o governo assumiu a meta de restaurar 12 milhões de hectares até 2030, por meio de acordos internacionais e nacionais (bonn challenge, 2020; Brasil, 2017).

Na recomposição de florestas nativas, um dos grandes desafios é a produção de mudas que possam suprir, em quantidade e qualidade necessárias, programas de reflorestamento e que possuam preços competitivos (Abreu *et al.* 2015). O plantio de mudas de árvores, embora mais caro, é a principal técnica de restauração aplicada no Brasil (Silva *et al.* 2017). Desta forma, é necessária a busca por técnicas e insumos que favoreçam e otimizem o estabelecimento dessas mudas no campo. Uma alternativa já validada cientificamente é a utilização de organismos simbiotes que auxiliam as plantas na aquisição de água e nutrientes, dentre outros benefícios (Franco; Faria, 1997). Dentre esses organismos estão os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), os quais serão abordados a seguir.

Benefícios da inoculação com Fungos Micorrízicos Arbusculares

Os estudos das associações micorrízicas tiveram início no século XIX (Trappe, 2005), sendo o primeiro estudo brasileiro conduzido por Sacco (1962) há apenas 60 anos. Essas são associações mutualistas entre fungos e plantas, onde os fungos, ao se associarem às raízes, estimulam o seu crescimento através do fornecimento de água e nutrientes. Em contrapartida, as plantas

fornece aos fungos fontes de carbono © necessárias para o seu crescimento (Santos, 2006). Dentre as associações micorrízicas, a mais comum é a simbiose com Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs). Os FMAs são abundantes em solos da maioria dos ecossistemas terrestres e podem formar associações simbióticas com 80% de todas as espécies vegetais terrestres (Van Der Heijden, 1998), sendo classificados no filo Glomeromycota (Schübler *et al.*, 2001). As plantas micorrizadas apresentam menor estresse nutricional (Koide, 1991), maior capacidade de absorção de água e aumento na taxa fotossintética (Smith; Read, 1997), além de maior densidade e longevidade das raízes e maior proteção contra patógenos (Sylvia; Williams, 1992). Esta simbiose em mudas pode gerar, como benefício, a redução de danos no transplante, maior índice de pegamento, redução no tempo de formação em viveiro, maior produção de substâncias de reserva e aumento na absorção de alguns nutrientes (Haas; Menge, 1990; Azcón-Aguilar *et al.*, 1992).

A capacidade aumentada de absorção de nutrientes proporcionada pelos FMAs é evidenciada, principalmente, para o fósforo (P), que na forma de fosfato inorgânico (forma absorvida pelas plantas) geralmente encontra-se imobilizado, sendo esta capacidade muito perceptível quando a concentração deste nutriente na solução do solo é baixa. A simbiose é importante também para o aumento da absorção de cobre (Cu), magnésio (Mg) e zinco (Zn), que são nutrientes pouco móveis (Berbara *et al.*, 2006). O P é um nutriente encontrado em baixas concentrações e pouco móvel em solos intemperizados, característicos do clima tropical. O aumento da absorção de P através dos FMAs é essencial para a sobrevivência de diversas espécies vegetais incapazes de mobilizar este nutriente e traz vários benefícios, como: (a) o aumento no crescimento e na atividade fotossintética; (b) o aumento na taxa de transferência de carboidratos para as raízes; e (c) o aumento no efluxo de carboidratos ao apoplasto, em direção ao dreno imposto pelo fungo micorrízico (Bucking; Shachar-Hill, 2005). Além disso, proporcionam uma maior economia no uso de fertilizantes fosfatados industriais.

Além dos benefícios da inoculação de FMAs anteriormente citados, deve-se acrescentar a produção de glomalina (Begum *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2020). A glomalina é uma glicoproteína produzida pelas hifas e esporos dos FMAs. Uma vez que essas estruturas dos FMAs são decompostas ou ocorre o processo de exsudação, a glomalina é depositada nos solos, passando

a fazer parte da proteína do solo relacionada à glomalina (PSRG) (Rillig, 2004). A deposição de glomalina contribui para o aumento da estabilidade dos agregados e para o estoque de C e água no solo, trazendo desse modo benefícios para o reflorestamento.

A PSRG constitui-se de uma mistura de compostos de origem micorrízica e não micorrízica (Rillig, 2004; Gillespie *et al.*, 2011; ZOU *et al.*, 2016). Em função do método de extração, duas frações são consideradas na maioria dos estudos: a PSRG facilmente extraível (PSRG-FE) e a PSRG total (PSRG-T) (Rillig, 2004). A PSRG-FE é considerada como a fração recém-depositada, mais ativa e relativamente mais lábil. Por sua vez, a PSRG-T é a soma da PSRG-FE com a PSRG - dificilmente extraível (originada da transformação bioquímica da PSRG-FE), ou seja, uma proteína mais velha, mais recalcitrante e mais aderida às partículas do solo (Rillig, 2004; Koide; Peoples, 2013; Wu *et al.*, 2014a).

Há um consenso de que a PSRG é um tipo de condicionador de solo, similar às substâncias húmicas, com enorme potencial no desenvolvimento de culturas perenes (Zou *et al.*, 2016; Gao *et al.*, 2019). A PSRG influencia as propriedades da rizosfera, com diversas funções ecológicas no sistema solo-água-planta (Chi *et al.*, 2018), como o armazenamento de carbono no solo (He *et al.*, 2020), aumento da estabilidade de agregados do solo (Wang *et al.*, 2015), aumento do crescimento (Wang *et al.*, 2015; Chi *et al.*, 2018) e aumento da tolerância das plantas à seca (Zou *et al.*, 2014; Chi *et al.*, 2018) e a metais pesados (Zhang *et al.*, 2020; Riaz *et al.*, 2020).

Alguns estudos com a produção de espécies de frutíferas perenes e de leguminosas arbóreas em diferentes condições hídricas, de solo e fertilização, dentre outros, têm demonstrado que a inoculação com FMAs aumenta o conteúdo de PSRG (Wu *et al.*, 2014b; Gomes Júnior *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2020; He *et al.*, 2020). Tal aumento coincide com um melhor desempenho no desenvolvimento das plantas (Wu *et al.*, 2014b; He *et al.*, 2020). Os efeitos positivos na produção das plantas, com o aumento da PSRG, têm sido relacionados, principalmente, à sua ação nas características químicas e físicas (agregação) do solo rizosférico. Além da sua atuação como quelante de metais pesados, reguladora de fitohormônios relacionados ao estado hídrico da planta, e protetora das hifas fúngicas contra a perda de

água, funcionando como uma camada hidrofóbica (Nichols, 2008; Zou *et al.*, 2016; Chi *et al.*, 2018; Riaz *et al.*, 2021).

Exemplos podem ser destacados, como no estudo de Wu *et al.* (2014b), que observaram que a micorrização de mudas de diferentes genótipos de *Citrus* com *Funneliformis mosseae* induziu o aumento das concentrações de PSRG-T e PSRG-FE na rizosfera. Enquanto Wang *et al.* (2014) observaram que os aumentos das frações da PSRG foram dependentes das espécies de FMA, uma vez que a espessura da parede e o diâmetro das hifas, bem como seu padrão de ramificação influenciaram a produção de PSRG. Wu *et al.* (2014b) observaram maiores taxas de desenvolvimento das plantas (altura, diâmetro do caule, área de superfície de raiz, volume de raiz e peso de parte aérea e raiz fresca), estabilidade de agregados e carbono orgânico do solo nos tratamentos inoculados com FMAs, cujo conteúdo de PSRG foi mais elevado. Correlações positivas e significativas entre as frações da PSRG e a estabilidade de agregados e carbono orgânico do solo na rizosfera também foram observadas. Portanto, pode-se sugerir que a PSRG, por meio das possíveis ações nos atributos químicos e físicos do solo, contribui indiretamente para o desenvolvimento das mudas e para a recuperação das áreas onde as mudas são transplantadas.

Em trabalho realizado por Zhang *et al.* (2020), a inoculação de mudas de *Robinia pseudoacacia* com *Rhizophagus intraradices*, em solos contaminados com arsênico (As) também aumentou os teores de PSRG-FE e PSRG-T e o crescimento da planta (peso de parte aérea e da raiz seca, o comprimento total da raiz, a área da superfície da raiz, e o volume da raiz), quando comparado com as mudas não inoculadas. Estes autores especularam que o aumento no conteúdo de PSRG pode ter contribuído para o incremento no comprimento das hifas extrarradiculares das micorrizas arbusculares (MA) e para o rápido tempo de renovação das hifas, em comparação ao tratamento sem inoculação. Assim, tendo em vista as evidências de que a glomalina é capaz de ligar poluentes como Cu, cádmio (Cd), chumbo (Pb) e Zn, ou imobilizá-los, absorvendo-os nas paredes celulares das hifas micorrízicas (Vodnik *et al.*, 2008; González-Chávez *et al.*, 2009; Spagnoletti *et al.*, 2017), inferiu-se que a resistência de mudas de *R. pseudoacacia* ao arsênio foi aumentada em função da glomalina originada dos FMAs.

Chi *et al.* (2018) observaram que a aplicação de PSRG-FE exógena (extraída do solo rizosférico de plantas de *Citrus unshiu* com 26 anos de idade) exibiu um efeito positivo no desempenho de crescimento das mudas e na morfologia radicular de *Poncirus trifoliata*, em condições de boa irrigação e, especialmente, sob estresse hídrico. Além disso, a PSRG-FE, em condições de seca, aumentou as concentrações de fitohormônios, como ácido abscísico, ácido indol-acético e metil-jasmonato, e estimulou a atividade da superóxido dismutase (enzima antioxidante mais sensível contra o estresse hídrico) nas raízes e nas folhas.

Produção de mudas inoculadas com FMAs

A produção de mudas florestais representa o início de uma cadeia de operações que visa o estabelecimento de florestas e povoamentos (Hoppe *et al.*, 2004). O viveiro é o local que deve proporcionar um ambiente adequado à germinação das sementes, ao crescimento das plântulas e à formação de mudas saudáveis e bem desenvolvidas (Moraes *et al.*, 2013). Esta fase é uma das mais importantes para o estabelecimento e o sucesso de povoamentos florestais, e está diretamente relacionada à qualidade das operações de viveiro e do seu produto. Várias pesquisas científicas têm sido realizadas com o objetivo de melhorar a qualidade das mudas, assegurando boa adaptação e crescimento após o plantio, dentre elas a inoculação com fungos micorrízicos (Santos *et al.*, 2016; Gomes Júnior *et al.*, 2018; Chu *et al.*, 2004).

No que se refere ao substrato, nem sempre o mais rico em termos nutricionais é o mais adequado para a colonização micorrízica (Abaurre *et al.*, 2020). Por se tratar de microrganismos, a sobrevivência dos FMAs e a sua interação com a planta são diretamente afetados pela qualidade do substrato ou pelo tipo de recipiente utilizado no viveiro. De acordo com Moraes *et al.* (2013), o substrato deve possuir características físicas e químicas adequadas para garantir a germinação das sementes e um bom desenvolvimento da muda até a sua completa formação no viveiro. As seguintes características são consideradas essenciais para um substrato de boa qualidade: a) boa estrutura e consistência; b) porosidade suficiente para uma boa drenagem da água das chuvas ou das regas, além de boa aeração para as raízes; c) boa capacidade de retenção de água, para evitar irrigações muito frequentes; d) ausência

de sementes ervas daninhas, doenças e pragas; e) viabilidade econômica e boa disponibilidade; f) características físicas e químicas homogêneas, para facilitar o preparo.

Para a produção de mudas inoculadas com fungos micorrízicos e bactérias fixadoras de nitrogênio, para revegetação de solos degradados, Franco *et al.* (1992) propuseram o substrato composto por 30% de composto orgânico, 30% de subsolo (argiloso), 30% de solo arenoso e 10% de fosfato de rocha (proporções baseadas em volume). Este substrato apresenta a enorme vantagem de ser preparado pelo produtor de mudas, utilizando-se os resíduos orgânicos compostados, resultantes de podas ou restos de colheita para a formação de mudas arbóreas micorrizadas. O substrato foi estudado por Tavares *et al.* (2016) na produção de mudas de *Mimosa caesalpiniaefolia* (sabiá), Souza *et al.* (2009) na produção de *Schinus terebinthifolius* (aroeira pimenteira) e por Santos (2018) na produção de *Anadenanthera peregrina* (angico), *Apuleia leiocarpa* (garapa) e *Melanoxylon braúna* (braúna). Para este último autor, o substrato de Franco *et al.* (1992) se igualou ao substrato comercial composto pela mistura de vermiculita expandida, turfa, carvão, macro e micronutrientes.

Abaurre *et al.* (2020) avaliaram o crescimento de mudas de *Samanea saman* (Jacq.) inoculadas com bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares cultivadas em nove substratos em casa de vegetação. Os autores observaram que a colonização e esporulação de FMAs foram favorecidas nos substratos com maior porcentagem de capacidade de tamponamento de água (água retida em tensão entre 5 e 10 kPa), que foram lodo de esgoto e subsolo argiloso 90% + cama de frango 10%.

Os substratos comerciais são criados com a proposta de serem produtos homogêneos, estabilizados e prontos para o uso (Hoffmann *et al.*, 2001). A utilização de substratos comerciais na produção de mudas micorrizadas é relatada por Tristão *et al.* (2006) na cultura do café, por Samarão *et al.* (2011) na cultura da graviola, por Anzanello *et al.* (2011) em porta-enxertos micropropagados de videira e por Abaurre (2020, 2021) para produção de mudas de *S. saman*.

Tristão *et al.* (2006) observaram que a colonização micorrízica foi maior nos substratos que continham solo na sua composição (Solo puro e Solo +

esterco) do que nos substratos orgânicos comerciais, nos quais foi inferior a 10%. Abaurre (2021) observou que mudas de *S. saman* inoculadas com bactérias e FMA, cultivadas com substrato comercial, não são recomendadas para plantio em locais sujeitos a déficit hídrico. De acordo com Schindler *et al.* (2017), o substrato comercial tem comportamento hidrofóbico (difícil reidratação) quando atinge baixa umidade.

Outro fator importante na produção de mudas inoculadas com FMAs é a escolha do recipiente para o desenvolvimento das mudas e dos FMAs, sendo escassas as pesquisas que abordam essa interação (recipiente x mudas inoculadas) (Carmo *et al.*, 2016). Entre as várias opções de recipientes para a produção de mudas, os tubetes e as células em caixa de isopor são excelentes para a produção de mudas micorrizadas. Isto porque estes recipientes ficam suspensos e possuem um orifício no fundo. Quando a raiz pivotante atinge o orifício, ocorre a poda feita pelo ar e a planta produz uma resposta fisiológica, emitindo raízes finas laterais, que são as colonizadas pelos fungos micorrízicos.

Quando se utiliza tubetes na formação de mudas, há que se ter cuidado para que a irrigação seja adequada. Desta forma, evita-se a elevada lixiviação e perdas de nutrientes (Chaves *et al.*, 2004), que pode reduzir a biomassa radicular e prejudicar a colonização micorrízica. Entre os aspectos relacionados com tubetes e lixiviação, destaca-se que pode ocorrer extrema flutuação no gradiente de umidade do solo. Santos (2018) comenta alguns trabalhos mostrando que esses extremos comprometem o crescimento dos FMAs, levando à diminuição do número de esporos (Land; Schönbeck, 1991). O número de esporos no substrato tende a ser menor com o excesso de água (Garcia *et al.*, 2008).

Em recipientes pequenos, onde haja alguma limitação para o crescimento das raízes, recomenda-se que se utilize um substrato com água facilmente disponível às plantas (Bunt, 1961), e que também proporcione uma nutrição adequada e favoreça a simbiose com os fungos micorrízicos.

A inoculação de FMAs deve ser praticada na formação das mudas para garantir o estabelecimento da simbiose. Pode-se utilizar inóculos de uma única espécie ou de uma mistura de FMAs. Em experimentos, é comum a aplicação de quantidade de inoculante suficiente para introduzir em torno de

100 esporos em cada muda. Sobre o inoculante, efetua-se o semeio das sementes ou o transplante de plântulas.

Recomenda-se pesquisar se há estudos anteriores para a espécie arbórea, pois ela pode responder melhor a uma determinada espécie de FMA. No Anexo 1, são apresentadas espécies arbóreas nativas do Brasil com respostas positivas à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares descritas na literatura.

Resposta e dependência das espécies arbóreas à micorrização

A adição de adubos orgânicos ou de substratos ricos em nitrogênio ou fósforo pode prejudicar o desempenho da inoculação com bactérias e FMAs (MELO *et al.*, 2009), pois a alta disponibilidade de nutrientes inibe o estabelecimento destas simbioses, afetando a resposta à inoculação.

A resposta à micorrização (ou à inoculação) é variável com a adubação, sendo alterada pelo tipo de solo/substrato, tipo de matéria orgânica, eficiência simbiótica do fungo e presença de fatores estressantes como, por exemplo, patógenos e metais tóxicos. A presença de resposta à micorrização indica que a planta possui algum grau de dependência às micorrizas, mas não se pode quantificar a dependência micorrízica da planta, pelo seu nível de resposta à micorrização. Conforme Saggin Junior e Silva (2006) a dependência micorrízica pode ser definida como “o grau de necessidade da simbiose micorrízica que a planta apresenta para germinar, crescer, sobreviver e reproduzir independente do ambiente que esteja”. Enquanto a resposta à micorrização pode ser definida como “o quanto uma planta micorrizada cresce, produz ou tem um conteúdo de nutrientes maior que uma planta não inoculada”.

Um exemplo de resposta à micorrização ocorre para a espécie *Araucaria angustifolia*. Essa espécie responde à micorrização até a dose de 150 mg kg⁻¹ de P, sendo as taxas de colonização radicular e esporulação variáveis com a espécie de FMA. A resposta com a espécie *Gigaspora rosea* é maior com baixos teores de P no solo, e com *Rhizophagus intraradices* nos teores mais elevados de P. Os FMAs nativos promovem respostas à micorrização

benéficas ao crescimento da araucária em qualquer teor de P (Moreira-Souza; Cardoso, 2002). Rocha *et al.* (2006) também observaram elevada resposta à micorrização de mudas de cedro, que se mantiveram responsivas até a dose de 800 mg kg⁻¹ de P aplicado ao solo.

Um exemplo de avaliação do grau de dependência micorrízica é o trabalho de Oliveira Júnior *et al.* (2017). Os autores avaliaram a resposta à micorrização de *Apuleia leiocarpa* em diferentes condições de disponibilidade de fósforo e espécies de fungos. Como essa espécie apresenta resposta à micorrização com *Dentiscutata heterogama*, mesmo em doses muito elevadas de fósforo, os autores concluem que essa espécie possui elevada dependência micorrízica. A quantificação da dependência micorrízica não pode ser feita facilmente, sendo que é proposto como seu quantificador o nível de fósforo para que a planta não micorrizada tenha um crescimento igual ao da micorrizada (Siqueira; Saggin Júnior, 2001).

Chaves e Borges (2005) avaliaram os efeitos de adubação fosfatada e de fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento das mudas de *Dalbergia nigra* em casa de vegetação. O experimento consistiu em cinco tratamentos com doses de P (0, 50, 100, 150 e 300 mg.dm⁻¹), na presença e ausência de *Gigaspora margarita* ou *Glomus fasciculatum*. Os autores constataram que as mudas inoculadas apresentaram maior resposta em crescimento em altura e diâmetro do coleto, quando comparadas com as mudas não inoculadas, independente da dose de P adicionada.

Vandresen *et al.* (2007) constataram que mudas de *Anadenanthera colubrina* produzidas com complementação mineral, apesar de apresentarem maior crescimento em viveiro, quando foram para campo, após seis meses do plantio, apresentaram sobrevivência e taxa de crescimento relativo significativamente menores do que as plantas do tratamento com substrato base (sem adição de adubos) inoculadas com FMAs.

Estima-se que cerca de 80% das espécies formem simbiose e tenham algum grau de dependência com os fungos micorrízicos arbusculares (Smith; Smith, 2011). Dentre árvores nativas, pode-se citar como responsivas à micorrização mesmo com alto fósforo disponível, sendo portanto dependentes de micorrizas: *Cedrela fissilis* (Rocha *et al.*, 2006; Siqueira; Saggin Júnior, 2001), *Araucaria angustifolia* (Moreira-Souza; Cardoso, 2002); *Solanum granuloso-leprosum*;

Lithraea molleoides; *Trema micranta*; *Luehea grandiflora*; *Senna spectabilis*; *Croton floribundus*; *Tibouchina granulosa*; *Cecropia pachystachya*; *Cordia trichotoma*; *Leucaena leucocephala*; *Senna macranthera*; *Caesalpinia ferrea*; *Myrsine umbellata*; *Tabebuia impetiginosa*; *Sapindus saponaria*; *Tabebuia serratifolia*; *Aspidosperma parvifolium* e *Copaifera langsdorffii* (Siqueira; Saggin Júnior, 2001) e *Apuleia leiocarpa* (Oliveira Júnior. *et al.*, 2017).

As espécies vegetais podem ter preferências em relação às espécies de FMAs (ou vice-versa), sendo recomendável testar diferentes espécies de FMAs, misturadas e isoladas em uma mesma planta, sob as mesmas condições ambientais, para selecionar combinações fungo-planta eficientes quanto à capacidade de promover resposta em crescimento à planta hospedeira (Rocha *et al.*, 2006). Dos Santos *et al.* (2016) avaliaram a influência de cinco espécies de FMAs no desenvolvimento de mudas de *Albizia polycephala*: *Gigaspora margarita*, *Dentiscutata heterogama*, *Scutellospora calospora*, *Claroideoglossum etunicatum* e *Acaulospora colombiana*. Todos os inoculantes de FMAs promoveram crescimento das mudas de *Albizia polycephala*, porém o mais eficiente foi o de *Acaulospora colombiana*, principalmente, pela superioridade no diâmetro, tamanho da maior folha e peso da matéria seca, que se refletiram em resultados semelhantes para a eficiência micorrízica.

Santos (2018) avaliou, em *Apuleia leiocarpa*, uma comunidade de FMAs composta por dez espécies, e verificou que a utilização de uma mistura de fungos proporcionou maiores valores de massa seca de parte aérea, área foliar e volume de raízes, quando comparada com o tratamento sem inoculação com FMAs.

Caldeira *et al.* (1999) avaliaram o efeito da inoculação com FMAs no crescimento de *Cassia leiandra*. Os autores observaram que as mudas foram colonizadas igualmente por *Rhizophagus clarus*, *Gigaspora margarita* e fungos nativos. No entanto, incrementos de biomassa aérea e biomassa de raízes finas foram observados apenas nas mudas inoculadas com *Rhizophagus clarus*.

Os experimentos que avaliam os benefícios da inoculação com FMAs, em sua maioria, estimam o desenvolvimento das mudas em viveiro, sendo poucos os que extrapolam a avaliação para a fase de campo (Marques *et al.*, 2001; Vandresen *et al.*, 2007). Diversas espécies da família Fabaceae têm sido estudadas quanto aos benefícios promovidos pela inoculação com fungos

micorrízicos (Anexo 1). Algumas espécies, porém, podem não demonstrar benefícios da inoculação na fase de mudas, dentre as quais, pode-se citar: *Myroxyton peruiferum* (Siqueira; Saggin-Júnior, 2001), *Parapiptadenia rigida*, (Patreze; Cordeiro, 2004), *Hymenaea coubaril* (Carneiro et al., 1998; Siqueira; Saggin-Júnior, 2001; Lacerda et al., 2011), *Melanoxyton brauna* (Santos, 2018). Um dos fatores que pode estar associado à ausência de resposta à micorrização nesta fase de muda é o lento crescimento destas espécies, em sua maioria, não pioneiras e de ciclo mais longo. Esse fato sugere a necessidade de ampliar o tempo de estudo, e de avaliar sua capacidade de associação em uma condição de germinação em sub-bosque, onde essas plantas podem estar sendo mantidas pelas micorrizas das plantas do dossel.

Outras leguminosas podem apresentar uma interação tripartite (FMA - planta - bactéria fixadora de nitrogênio) (Bournaud et al., 2018). Diversos estudos mostraram que a inoculação dupla de rizóbios e FMAs aumenta significativamente o desenvolvimento das plantas e/ou o estabelecimento no campo, conforme já foi observado para *Anadenanthera peregrina* var. *falcata* (Gross et al., 2004), *Centrolobium tomentosum* (Marques et al., 2001), *Piptadenia gonoacantha* (Bournaud et al., 2018), *Tachigali vulgaris* (Freire et al., 2020), *Enterolobium contortisiliquum* (Souza et al., 2010). Em alguns casos, entretanto, é possível a ocorrência de incompatibilidade entre simbiontes, conforme já foi sugerido para a espécie *Dalbergia nigra* (Santiago et al., 2002).

Aquisição de inóculo de isolados de Fungos Micorrízicos Arbusculares do Centro de Recursos Biológicos Johanna Döbereiner (CRB-JD)

A Embrapa Agrobiologia, através do Centro de Recursos Biológicos Johanna Döbereiner (CRB-JD), mantém uma coleção de fungos micorrízicos e endófitos denominada de Coleção de Fungos da Embrapa Agrobiologia (COFMEA), a qual oferece serviços à comunidade por intermédio do CRB-JD. Dentre os serviços prestados está o fornecimento de inóculo de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) para pesquisa. O inóculo de FMAs oferecido

é produzido pelo cultivo de plantas hospedeiras em solo, sendo designado como “solo-inóculo”. Esse inóculo não se encaixa na exigência de pureza da legislação brasileira que define inoculantes, como será discutido ainda nesta publicação.

O solo-inóculo é um produto multiplicado em planta viva, em casa de vegetação, geralmente utilizando o capim braquiária como planta hospedeira. O solo-inóculo é o solo onde se cultivou a braquiária e os fungos em simbiose, contendo pedaços de raízes colonizadas e fragmentos de hifas, além dos esporos fúngicos. Certamente, esse produto contém, junto, outros microrganismos rizosféricos do capim braquiária. Pela legislação brasileira de inoculantes, é necessário um grau de pureza do inoculante de forma a haver ausência de crescimento de outros microrganismos contaminantes na diluição 10^{-4} do produto, sendo tal exigência viável para inoculantes produzidos em condições axênicas. O inóculo de FMAs, na forma de solo-inóculo não é comercializado, mas ofertado pelo custo de produção para atender à demanda desse produto pela pesquisa nacional sobre os benefícios das micorrizas.

Produção de inoculante micorrízico

A multiplicação de Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs) deve ser feita na presença de raízes em crescimento (fisiologicamente ativas), sendo os FMAs ainda considerados biotróficos obrigatórios, ou seja, não completam o ciclo reprodutivo em meio de cultura sem uma raiz hospedeira. No entanto, alguns trabalhos de co-cultura de *Rhizophagus irregularis* e a bactéria *Paenibacillus validus*, consideradas auxiliares de micorriza, demonstraram a possibilidade dos FMAs completarem seu ciclo reprodutivo sem a presença de raízes (Hildebrandt *et al.*, 2002; 2006). Estudos da diferente ativação de genes entre plantas mutantes não micorrízicas e plantas parentais micorrízicas têm demonstrado a ativação de genes que produzem proteínas transportadoras de lipídios na simbiose (Jiang *et al.*, 2018; Keymer *et al.*, 2017). Portanto, ácidos graxos da planta são essenciais para o crescimento dos fungos, com os quais, no meio de cultura, amplia-se a esporulação assimbiótica dos FMAs (Kameoka *et al.*, 2019). Certamente, a evolução dessas pesquisas irá revolucionar a forma de produzir inoculantes de FMAs, levando a uma nova geração de inoculantes micorrízicos (Tanaka *et al.*, 2020).

Apesar de haver avanços nos sistemas de cultura assimbiótica de FMAs, os esporos produzidos ainda são menores do que nas culturas simbióticas e seu desempenho como inoculante ainda não foi bem estudado (Tanaka *et al.*, 2020). Para a atual produção axênica de inoculantes desses fungos, há a necessidade de manter raízes crescendo abundantemente, em meio totalmente estéril, o que torna a produção de inoculante onerosa e difícil. Nos dias atuais, a maioria dos inoculantes produzidos de FMAs ainda é multiplicada em uma planta hospedeira viva, cultivada em uma condição desinfestada, mas raramente completamente esterilizada.

Esta dificuldade, aliada à legislação brasileira de inoculantes, altamente exigente de pureza e ausência de outros microrganismos, atrasou bastante a entrada comercial de inoculantes micorrízicos na agricultura brasileira. Atualmente, começam a entrar no mercado nacional inoculantes micorrízicos importados, produzidos com técnicas que são patenteadas ou encontram-se sob segredo industrial. Mas, certamente, todos os inoculantes disponíveis atualmente, utilizam-se de plantas ou culturas de raízes, como hospedeiros e meio de cultura, solução nutritiva ou substrato para o cultivo das plantas ou raízes hospedeiras.

a) Multiplicação em meio de cultura

O inoculante de FMA que atende à atual legislação brasileira deve ser produzido em condições axênicas, livre de microrganismos contaminantes, particularmente patógenos vegetais e humanos. A tecnologia de multiplicação axênica de FMAs foi criada na década de 1980 (Mugnier; Mosse, 1987) usando culturas de raízes geneticamente modificadas pelo gene Ri ("root-inducing") da bactéria *Rhizobium rhizogenes*, antes classificada como *Agrobacterium rhizogenes*. Na natureza, essa bactéria provoca uma doença nas raízes de dicotiledôneas, cujo sintoma é o crescimento de raízes adventícias altamente ramificadas no local da infecção, chamadas de "raízes cabeludas" (Chilton *et al.*, 1982).

Essas raízes transformadas, de crescimento abundante e ramificadas, desenvolvem-se bem em meio de cultura axênico, com baixo teor de nutrientes e açúcares, condição essa necessária para que os FMAs cresçam e esporulem (Bécard; Fortin, 1988; Bécard; Piché, 1990). Apesar de ser uma

excelente tecnologia de multiplicação de FMAs, as principais limitações são: a não adaptação de algumas espécies de FMAs ao sistema; o longo tempo necessário para a esporulação dos FMAs; a baixa produção de esporos de algumas espécies dentro do sistema; o custo e trabalho constante para manter algumas espécies de FMAs sob cultivo contínuo *in vitro* e a possibilidade de perda de características fisiológicas e genéticas das linhagens fúngicas devido ao cultivo contínuo em ambiente artificial (Kokkoris; Hart, 2019). As empresas que desenvolveram sistemas de multiplicação *in vitro* de FMAs em larga escala, mantém a tecnologia como segredo industrial, e as espécies mais comuns oferecidas dentro desse sistema pertencem ao gênero *Rhizophagus*, particularmente, as espécies *Rhizophagus intraradices* e *Rhizophagus irregularis*. As espécies desse gênero esporulam abundantemente dentro das raízes vegetais (Schübler; WALKER, 2010).

b) Multiplicação em solução nutritiva

Entre as técnicas que usam solução nutritiva para o crescimento de plantas hospedeiras, visando à multiplicação de FMAs nas suas raízes, destacamos a técnica de aeroponia (Sylvia; Hubbell, 1986). No sistema aeropônico, a solução nutritiva é finamente pulverizada sobre as raízes com jatos intermitentes, permitindo, às raízes, crescerem em um ambiente extremamente aerado. As plantas são colocadas no sistema com as raízes previamente colonizadas com o fungo micorrízico que se deseja multiplicar. O sistema pode ser fechado dentro de uma câmara de crescimento, a qual, no desenvolvimento original da tecnologia (Sylvia; Hubbell, 1986), era uma caixa d'água de cimento-amianto. O sistema permite a multiplicação dos FMAs sem um substrato sólido, o que produz um inoculante leve e concentrado.

As principais limitações do sistema são: a não adaptação de certas espécies de FMAs, certamente funcionando melhor nas espécies que esporulam intraradicalmente; a dificuldade de manter esse sistema em condições axênicas; a necessidade de energia constante e estável para manter a pulverização intermitente da solução nutritiva que, em uma eventual falha do sistema elétrico, poderia provocar a perda de todo o lote de multiplicação; a constante necessidade de acompanhamento da qualidade da solução nutritiva (pH, nutrientes, crescimento de algas etc); a necessidade de controle de temperatura pelo efeito estufa dentro da câmara de crescimento; e a

limitação de plantas hospedeiras que se adaptem a esse sistema. As plantas hospedeiras sugeridas por Jarstfer e Sylvia (1995), para serem utilizadas para aeroponia, são a batata-doce, grama batatais, milho e o híbrido sorgo-capim-sudão.

Os métodos para pulverização da solução nutritiva nas raízes podem ser diversos, com uso de disco atomizador, bicos pulverizadores ou micro-aspersores pressurizados ou nebulizador ultrassônico. Os principais problemas que os sistemas de pulverização apresentam são de agitação excessiva das raízes, rompimento ou enrolamento das raízes nas peças ou, ainda, de serem volumosos, reduzindo o espaço disponível para as raízes. O sistema deve apresentar gotas pequenas cujo tamanho não prejudique o crescimento extrarradicular dos FMAs.

A solução nutritiva usada é acumulada no fundo da câmara e pode ser reutilizada, fazendo-se filtragens e correções periódicas de pH, sendo trocada periodicamente para evitar o esgotamento, o desbalanço de nutrientes e o acúmulo de toxinas.

c) Multiplicação em substrato

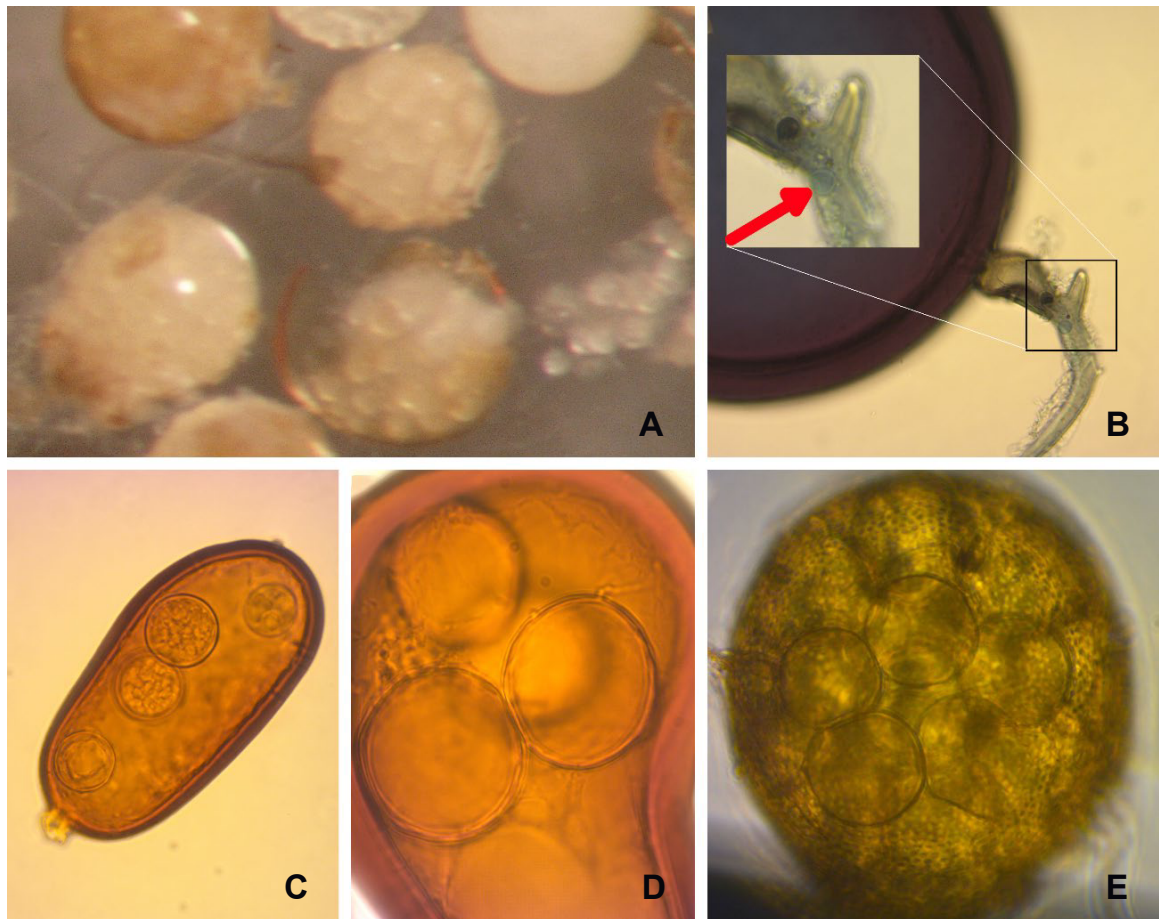
A maioria dos inoculantes estudados de FMAs é produzida utilizando plantas hospedeiras cultivadas em substratos. Várias técnicas podem ser utilizadas, contudo, a mais comum é o uso de vasos com solo autoclavado, cultivados em casa de vegetação. No entanto, existem vários estudos de multiplicação em canteiros, caracterizando a produção de um inoculante “*on farm*”, em cuja produção dificilmente se obtém um inoculante de uma única espécie de FMA (monoespecífico) (Douds Junior. *et al.*, 2005; Feldmann; Idczak, 1992).

O inóculo inicial da produção de inoculantes em substrato é bastante importante, já que é o método de multiplicação que menos permite acompanhamento da pureza do que está sendo multiplicado. É importante que o inóculo inicial tenha sido checado quanto a pureza da linhagem ou tenha uma origem confiável, já que ainda não existem inóculos certificados sendo comercializados. O CRB-JD presta serviços de fornecimento de linhagens de FMAs e de recebimento de depósito de linhagens para empresas que desejam registrar inoculantes. O Acervo da COFMEA é baseado em fungos

endofíticos, particularmente, os micorrízicos. Somente são aceitas para depósito linhagens fúngicas classificadas no grupo de risco biológico 1, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) e que atendam ao escopo da coleção. O fornecimento e recebimento de depósitos de linhagens fúngicas devem seguir os trâmites legais brasileiros para acesso e transporte do patrimônio genético brasileiro, particularmente, quanto aos acordos de transferência de materiais, que seguirão os modelos do Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN) e o registro de acesso das linhagens no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético (SisGen).

Durante a multiplicação do inoculante, a contaminação das culturas de FMAs com outros fungos micorrízicos ou mesmo com fitopatógenos indesejados ocorre através do vento e animais (formigas, centopeias, ratos, pererecas etc.). A contaminação ocorre facilmente mesmo dentro da casa de vegetação, pois algumas espécies de FMAs extremamente esporulantes, como *Oehlia diaphana* e *Rhizogloium microaggregatum*, podem infectar e dominar rapidamente a cultura de multiplicação de outro fungo micorrízico. Esses fungos possuem grande capacidade de disseminação, sendo que *R. microaggregatum* consegue esporular dentro de esporos e hifas de outros FMAs (Figura 1). Para evitar a contaminação, bancadas com culturas puras de FMAs devem ser mantidas limpas, sem poeiras e solos; a irrigação deve ser cuidadosa, evitando-se respingos entre vasos; a ventilação deve ser com velocidade moderada; deve-se deixar largo espaço entre vasos e o acesso de animais deve ser controlado, particularmente, de formigas que, geralmente, são ignoradas por serem minúsculas, mas transitam livremente de um vaso para outro.

Quando se multiplica FMAs na presença de substratos, as plantas hospedeiras mais comuns são gramíneas e leguminosas. Entre várias possibilidades, as mais frequentes são capins braquiárias (*Brachiaria decumbens* Stapf e outras espécies), milho (*Zea mays* L.), painço (*Panicum miliaceum* L.), sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), capim-sudão (*Sorghum sudanense* (Piper) Stapf) e o híbrido sorgo/capim-sudão, grama batatais ou baiana (*Paspalum notatum* Flüggé), capim andropogon (*Andropogon gayanus* Kunth), capim coloniã (*Panicum maximum* Jacq.), kudzu tropical (*Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth.), centrosema (*Centrosema pubescens* Benth.) e estilosantes (*Stylosanthes guianensis* (Aubl.) Sw. var. *vulgaris*).



Fotos: Itamar Garcia Ignácio

Figura 1. Esporulação de *Rhizoglyphus microaggregatum* dentro de outros fungos micorrízicos arbusculares. (A) dentro de esporos de *Gigaspora margarita* em casa-de-vegetação; (B) dentro da hifa de sustentação de esporos de *Gigaspora margarita* (seta vermelha); (C) e (D) dentro de esporos de *Glomus macrocarpum* em campo; (E) dentro de esporos de *Acaulospora scrobiculata* em campo.

As gramíneas produzem maior volume de raízes colonizadas, que são importantes propágulos de FMAs. São eficientes na fotossíntese (em geral se utilizam gramíneas C4), o que favorece a nutrição dos FMAs e resulta em maior rapidez de cultivo. As leguminosas, geralmente, estimulam maior produção de esporos (Sieverding, 1991). Quando o inoculante se destina a plantas dicotiledôneas, o ideal é que ele seja multiplicado em gramíneas para evitar a multiplicação dos patógenos típicos de dicotiledôneas. E, quando o inoculante se destina a gramíneas, o ideal é que seja multiplicado em leguminosas. Também deve-se evitar plantas hospedeiras que possam constituir potenciais plantas invasoras ou evitar que estas produzam sementes através de podas periódicas.

Em relação ao substrato de multiplicação dos FMAs, eles já foram cultivados nos mais diversos tipos. Os substratos mais comuns têm sempre um tipo de solo ou areia na sua composição, sendo comum também o emprego de argilas expandidas, como vermiculita e perlita, e fontes de matéria orgânica, como turfa e húmus de minhoca. A escolha do substrato vai depender da disponibilidade regional, do custo, do peso, da adaptação do fungo e da planta, da perspectiva de uso direto dele como parte do inoculante ou mesmo como substrato para a formação de mudas. O recomendável para uma boa multiplicação dos propágulos de FMAs é que o substrato tenha baixos teores de nutrientes, particularmente de P, o qual inibe o estabelecimento da simbiose e a produção de propágulos dos FMAs (Balzergue *et al.*, 2013).

Substratos contendo solo e areia, em geral, são bastante conducentes aos FMAs, e, assim, são os mais utilizados para sua multiplicação. A textura grossa da areia facilita a drenagem e aeração, o que também favorece a multiplicação e a separação dos esporos por decantação. O peso destes materiais é o fator mais limitante para seu uso, particularmente, quando o substrato fará parte do inoculante a ser utilizado.

Materiais orgânicos dos mais diversos já foram testados na multiplicação de FMAs. Alguns substratos orgânicos podem inibir a formação de micorrizas por apresentarem baixo pH, alto teor de nutrientes, como fósforo disponível, e metais pesados. Este efeito depende da origem do material orgânico.

Materiais minerais como a perlita e vermiculita, dentre outros, têm sido avaliados e recomendados como substrato para produção de inoculante e veículo dos FMAs (Plenchette *et al.*, 1982; Dehne; Backhaus, 1986; Feldmann; Idczak, 1992). Esses minerais têm as vantagens de serem inorgânicos, industrializados e isentos de patógenos. Como são materiais porosos, os FMAs podem esporular dentro dos seus poros, o que pode proteger e estender a vida dos propágulos. Geralmente, tornam o inoculante produzido mais leve e, como existem diversas granulometrias disponíveis, o uso de uma granulometria ideal pode facilitar a aplicação do inoculante. Outras vantagens são o custo relativamente baixo; a capacidade de serem armazenados por longos períodos, sob várias condições e de poderem ser lavados e autoclavados sem mudar acentuadamente suas características químicas.

Avanços na legislação sobre bioinsumos e inoculantes micorrízicos no Brasil

O Programa Nacional de Bioinsumos e o Conselho Estratégico do Programa Nacional de Bioinsumos foram instituídos pelo Decreto nº 10.375, de 26 de maio de 2020. Este decreto define bioinsumo como “o produto, o processo ou a tecnologia de origem vegetal, animal ou microbiana, destinado ao uso na produção, no armazenamento e no beneficiamento de produtos agropecuários, nos sistemas de produção aquáticos ou de florestas plantadas, que interfiram positivamente no crescimento, no desenvolvimento e no mecanismo de resposta de animais, de plantas, de microrganismos e de substâncias derivadas e que interajam com os produtos e os processos físico-químicos e biológicos”.

Portanto, esse decreto unifica os bioinsumos como sendo qualquer produto, processo ou tecnologia derivada da diversidade biológica, mas que seja destinado à agropecuária, sistemas de produção aquáticos ou florestais. A definição de bioinsumo não abrange claramente seu uso na indústria de alimentos e farmacêutica, dentre outras. Atualmente, para o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), as legislações onde os bioinsumos se encaixam, indicam ser direcionadas apenas para a agricultura e florestamento. A legislação ainda parece não abranger a pecuária e seus produtos veterinários.

A atual legislação brasileira enquadra os diferentes bioinsumos como diferentes produtos: agentes de controle biológico; agentes microbiológicos de controle; produtos bioquímicos; produtos semioquímicos; estimulantes ou biofertilizantes, condicionadores e inoculantes. A legislação sobre esses produtos, em geral, não prevê sua mistura ou que um mesmo produto possa ter duas destas funções.

A legislação brasileira para registro de inoculantes microbianos destinados à promoção do crescimento de plantas dificulta o surgimento de produtos oficializados contendo fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e outras misturas de microrganismos benéficos à produção vegetal. A isso se deve os poucos produtos contendo FMAs no mercado nacional.

Os inoculantes para uso agrícola foram definidos, primeiramente, na Lei nº 6.894, de 16 de dezembro de 1980, como sendo “material que contenha microrganismos fixadores de nitrogênio e que atue favoravelmente no desenvolvimento das plantas”. Essa definição equivocada e restritiva foi corrigida sete meses depois pela Lei nº 6.934, de 13 de julho de 1981, que definiu inoculante como “substância que contenha microrganismos com a atuação favorável ao desenvolvimento vegetal”.

Somente depois de 24 anos, essa Lei de 1980 foi regulamentada pelo Decreto nº 4.954, de 14 de janeiro de 2004, estabelecendo normas sobre registro, padronização, classificação, inspeção e fiscalização da produção e do comércio de produtos agrícolas, entre eles os inoculantes. Para os demais produtos agrícolas, o artigo 2º desse decreto define os diferentes tipos encontrados no mercado. Para inoculante, em vez de serem definidos diferentes tipos, o artigo define apenas o suporte e a pureza dos produtos como sendo:

- a) suporte: material excipiente e esterilizado, livre de contaminantes segundo os limites estabelecidos, que acompanha os microrganismos e tem a função de suportar ou nutrir, ou ambas as funções, o crescimento e a sobrevivência destes microrganismos, facilitando a sua aplicação; e
- b) pureza do inoculante: ausência de qualquer tipo de microrganismos que não sejam os especificados.

Essas duas definições são altamente limitantes para a produção de inoculantes de FMAs. Por sua biotrofia obrigatória, a multiplicação desses fungos ainda tem que ser realizada na presença de raízes com crescimento fisiológico ativo. Excetuando-se poucas espécies que conseguem se multiplicar abundantemente em culturas axênicas de raízes, a maioria das espécies de FMAs requer uma planta viva para sua multiplicação e, conseqüentemente, a presença de outros microrganismos rizosféricos. Além disso, os FMAs possuem bactérias endógenas cuja presença é importante para seu metabolismo e, possivelmente, não podem ser eliminadas (BIANCIOTTO *et al.*, 2000). Essa característica dos FMAs de apresentarem uma comunidade micorrizosférica tornam muito restrito o registro de seus inoculantes, que

possam atender as duas definições de inoculante do Decreto nº 4.954, de 14 de janeiro de 2004.

Esse problema já foi discutido com técnicos do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) resultando no encaminhamento a esse Ministério de propostas de modificações ao Decreto nº 4.954/2004. A proposta de modificação do Decreto nº 4.954 prevê a eliminação das especificações de pureza e suporte do inoculante, as quais deverão ser determinadas em Instruções Normativas de acordo com cada grupo de microrganismo passível de inoculação. Entretanto, a modificação de um Decreto é um processo que envolve o interesse do Ministro da Agricultura, da Casa Civil e da Presidência da República. Portanto, pode ser moroso sem o interesse político necessário.

Dentro da legislação brasileira para inoculantes, para normatizar essa Lei e esse Decreto, foram criadas as Instruções Normativas do MAPA, particularmente as editadas pela Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA) desse Ministério. As Instruções Normativas que enfocam diretamente os inoculantes são a Instrução Normativa SDA/MAPA nº 30, de 12 de novembro de 2010, que estabelece métodos oficiais para análise de inoculantes, e a Instrução Normativa SDA/MAPA nº 13, de 24 de março de 2011, que aprova as normas sobre especificações, garantias, registro, embalagem e rotulagem dos inoculantes, bem como as relações dos microrganismos autorizados e recomendados para produção de inoculantes no Brasil.

A Instrução Normativa (IN) nº 30, de 12 de novembro de 2010 foi criada visando inoculantes de bactérias fixadoras de nitrogênio. A maioria das metodologias propostas, particularmente, de identificação, não pode ser aplicada em um inoculante de fungos micorrízicos. Entretanto, os inoculantes de FMAs que vêm sendo atualmente registrados no MAPA são analisados parcialmente pelas metodologias da IN nº 30, apenas utilizando as metodologias que sejam viáveis de serem aplicadas para um inoculante de FMAs. Assim, baseado nessa Instrução Normativa, os inoculantes de FMAs têm sido analisados, particularmente, quanto ao quesito pureza ou ausência de microrganismos contaminantes que cresçam em meios de culturas. Lembrando que os FMAs podem conter bactérias endógenas que ainda não foram isoladas em meio de culturas, vírus ou outros fungos não culturáveis. Existe uma proposta de criação de uma Instrução Normativa para estabelecer metodologias

específicas para análise de inoculante de FMAs, o que facilitaria o trabalho de registro desses inoculantes. No entanto, ainda não se chegou a um documento final, cujas metodologias possam ser executadas facilmente e rapidamente em caso de fiscalização.

A IN nº 13, de 24 de março de 2011 que aprova as especificações, garantias, registro, embalagem e rotulagem dos inoculantes, separa os inoculantes apenas entre dois grupos de produtos. O primeiro são os que contém bactérias fixadoras de nitrogênio para leguminosas e o segundo são os produtos que incluem outros grupos de microrganismos (como descrito na IN: “bactérias associativas, microrganismos promotores de crescimento de plantas, de vida livre, associativos ou simbióticos”). Para o primeiro grupo de inoculantes, a IN estabelece o número mínimo de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por grama ou mililitro de produto. Para o segundo grupo de inoculantes, a concentração de propágulos deverá ser informada no processo de registro do produto, de acordo com uma recomendação específica emitida por um órgão brasileiro de pesquisa científica oficial ou credenciado pelo MAPA. Para o primeiro grupo de inoculantes, a IN exige a especificação da cultura a ser inoculada no rótulo. Para o segundo grupo de inoculantes, isso não é exigido. A IN 13 prevê inoculantes apenas nas formulações sólida e fluída, dificultando produtos que poderiam ser a base de géis. Adicionalmente, a IN 13 possui três anexos, cada um contendo os protocolos oficiais para avaliação da viabilidade e eficiência agrônômica das cepas inoculantes e tecnologias de inoculação, sendo o primeiro anexo referente a bactérias fixadoras de nitrogênio em leguminosas; o segundo anexo referente a bactérias associativas e o terceiro anexo referentes a microrganismos promotores de crescimento.

Proposta de modificação da Instrução Normativa nº 13, visando adaptá-la melhor aos inoculantes de FMAs, também já foi apresentada ao MAPA, o que inclui modificações no texto e a criação de um novo anexo, com protocolos para avaliação da eficiência agrônômica de FMAs. Essas modificações permitiriam normas mais específicas para inoculantes micorrízicos e testes agrônômicos direcionados para FMAs, o que facilitaria o registro de inoculantes de FMAs e a clareza das análises sobre a qualidade do produto inoculante.

Uma outra possibilidade para comercialização de produtos contendo propágulos de FMAs seria o registro desse produto como “condicionadores de solo” (nesse caso o produto não seria mais um inoculante). Para isso o

produto deverá atender a Instrução Normativa SDA/MAPA nº 35, de 4 de julho de 2006, que aprova as normas sobre especificações e garantias, tolerâncias, registro, embalagem e rotulagem dos corretivos de acidez, de alcalinidade e de sodicidade e dos condicionadores de solo. Isso permitiria a comercialização de produtos contendo propágulos de FMAs sem a necessidade de rigorosa pureza microbiana, podendo o produto ser constituído do solo-inóculo comumente usado nas pesquisas para inocular esses fungos. Pode ser composto por numerosos fungos e outros microrganismos. Esse tipo de produto não deixa de ser interessante para a produção de mudas florestais e para a recuperação de áreas degradadas, mas apresenta riscos grandes para uso em uma agricultura de grande escala e na produção de alimentos. A venda de condicionadores de solo que contenham propágulos de FMAs pode atender o fornecimento de espécies de FMAs não adaptáveis a multiplicação em condições axênicas.

Conclui-se, sobre a legislação brasileira de inoculantes, que a criação de uma Instrução Normativa com metodologias de análises específicas para inoculantes de FMAs, adicional à IN nº 30, facilitará o trabalho de registro de inoculantes desses fungos no MAPA. Que a implementação de modificações no Decreto nº 4.954 e nas IN nº 13 e nº 35 também auxiliará a expansão do limitado mercado de inoculante de FMAs existente no Brasil.

Considerações finais

O desafio de produção de mudas de espécies arbóreas para suprir programas de reflorestamento e recomposição de florestas nativas pode ser muito auxiliado pela inoculação de Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs), como discutido neste documento.

O aumento da capacidade de absorção de nutrientes pelas mudas, proporcionado pelos FMAs e sua maior tolerância aos estresses do transplante e na competição vegetal por espaço e luz, propiciam economia na implantação de reflorestamentos, e a inserção de espécies nativas que dependem desses fungos para a formação de sua muda e seu estabelecimento no campo. O reflorestamento feito com a técnica da inoculação micorrízica, proporciona um solo com maiores teores de glomalina, o que contribui para a mais rápida estabilização dos agregados e estocagem de C e água no solo.

A inoculação micorrízica de mudas florestais, pode gerar novas cadeias comerciais de inoculantes e substratos específicos em manter a simbiose, e de mudas produzidas com micorrizas. Além da possibilidade da inserção conjunta de outros bioinsumos benéficos, como a inoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio.

No campo científico, a evolução das pesquisas avaliando a dependência micorrízica da grande diversidade vegetal das florestas e a seleção de fungos adaptados às condições de viveiro e às diferentes espécies florestais é o ponto de partida para a efetivação do sucesso da introdução de FMAs na produção de mudas florestais. A possibilidade de adquirir o solo-inóculo em pequenas quantidades no Centro de Recursos Biológicos Johanna Döbereiner (CRB-JD) auxilia a pesquisa e pequenos produtores de mudas. Outros serviços prestados pelo CRB-JD como o fornecimento e recebimento de depósitos de linhagens fúngicas auxiliam as empresas produtoras de inoculantes, para aquelas espécies florestais cujos inoculantes podem ser demandados em escala industrial (por exemplo, para eucalipto e cedro).

A evolução científica nas técnicas de produção de inoculantes, favorecerão certamente a disponibilidade, custo e pureza do material inoculante, o que concretizará a inoculação inclusive de grandes culturas anuais. Mas a produção de inoculantes micorrízicos arbusculares específicos para determinada espécie ou condição florestal poderão ser continuados a ser produzidos utilizando-se a técnica de cultivo de uma planta hospedeira em substrato. Para isso é necessário avançar na normatização do Decreto de Bioinsumos (Decreto nº 10.375, de 26 de maio de 2020), estabelecendo metodologias de análises específicas para inoculantes de FMAs, e flexibilização do uso de inoculantes micorrízicos produzidos em plantas hospedeiras para uso em pequena escala ou em culturas cujas finalidades não sejam alimentícias.

Anexo 1. Estudos envolvendo a inoculação de espécies de fungos micorrízicos arbusculares em árvores nativas do Brasil.

Espécie	FMA's eficientes	Referência
<i>Albizia polycephala</i>	<i>Acaulospora colombiana</i>	Santos <i>et al.</i> (2016)
<i>Anadenanthera peregrina</i>	<i>Claroideoglossum etunicatum</i> ; <i>Acaulospora scrobiculata</i> ; <i>Gigaspora margarita</i>	Tótola <i>et al.</i> (2000), Gross <i>et al.</i> (2004), Scabora <i>et al.</i> (2011), Gomes <i>et al.</i> (2012)
<i>Apuleia leiocarpa</i>	<i>Rhizophagus clarus</i> ; <i>Gigaspora margarita</i> ; <i>Dentiscutata heterogama</i> ; mistura desses três fungos	Oliveira Junior <i>et al.</i> (2015)
<i>Araucaria angustifolia</i>	<i>Rhizophagus clarus</i>	Moreira-Souza; Cardoso, 2002; Zandavalli <i>et al.</i> (2004)
<i>Astronium graveolens</i>	<i>Rhizophagus fasciculatus</i>	Hernández; Salas (2009)
<i>Calophyllum brasiliense</i>	<i>Gigaspora margarita</i> ; <i>Rhizophagus clarus</i>	Silva <i>et al.</i> (2018); Sierra-Escobar <i>et al.</i> (2012)
<i>Cassia leiandra</i>	<i>Rhizophagus clarus</i>	Caldeira <i>et al.</i> (1999)
<i>Cedrela fissilis</i>	<i>Claroideoglossum etunicatum</i> ; <i>Rhizophagus clarus</i> ; <i>Acaulospora scrobiculata</i> ; <i>Gigaspora margarita</i> ; <i>Cetrpora pellucida</i> ; <i>Acaulospora colombiana</i>	Rocha <i>et al.</i> (2006); Siqueira; Saggin Junior (2001), Zangaro <i>et al.</i> (2005), Pouyu-Rojas <i>et al.</i> (2006)
<i>Ceiba pentandra</i>	<i>Acaulospora mellea</i> ; <i>Acaulospora morrowiae</i> ; <i>Claroideoglossum claroideum</i> ; <i>Acaulospora scrobiculata</i> e <i>Acaulospora spinosa</i>	Lovelock <i>et al.</i> (2003); Huante <i>et al.</i> (2012); Janos <i>et al.</i> (2013); Bechem <i>et al.</i> (2018)
<i>Centrolobium tomentosum</i>	Mistura de fungos (<i>Gigaspora margarita</i> , <i>Scutelospora heterogama</i> e <i>Glomus etunicatum</i>)	Marques <i>et al.</i> (2001)
<i>Copaifera langsdorffii</i>	<i>Claroideoglossum etunicatum</i>	Siqueira; Saggin-Junior (2001), Zangaro <i>et al.</i> (2003)
<i>Cordia trichotoma</i>	<i>Claroideoglossum etunicatum</i>	Zangaro <i>et al.</i> (2003)
<i>Dalbergia nigra</i>	<i>Gigaspora margarita</i> ; <i>Claroideoglossum etunicatum</i> ; <i>Dentiscutata heterogama</i> ; <i>Rhizoglossum fasciculatum</i>	Chaves; Borges (2005); Chaves <i>et al.</i> (1995); Santiago <i>et al.</i> (2002)

Anexo 1. Estudos envolvendo a inoculação de espécies de fungos micorrízicos arbusculares em árvores nativas do Brasil. (continuação)

Espécie	FMA's eficientes	Referência
<i>Dipteryx alata</i>	<i>Rhizoglyphus clarum</i>	Scabora <i>et al.</i> (2011)
<i>Enterolobium schomburgkii</i>	<i>Glomus clarum</i> ; <i>Glomus macrocarpum</i>	Caldeira <i>et al.</i> (2003)
<i>Handroanthus serratifolius</i>	<i>Cetraspora pellucida</i> ; <i>Acaulospora colombiana</i> ; <i>Gigaspora margarita</i> ; <i>Rhizoglyphus clarum</i> ; <i>Claroideoglyphus etunicatum</i>	Carneiro <i>et al.</i> (1998), Siqueira; Saggin-Júnior (2001); Pouyu-Rojas <i>et al.</i> (2006)
<i>Hymenaea courbaril</i>	<i>Claroideoglyphus etunicatum</i>	Gonzaga <i>et al.</i> (2016)
<i>Inga laurina</i>	<i>Glomus clarum</i>	Lacerda <i>et al.</i> (2011)
<i>Mimosa bimucronata</i>	<i>Acaulospora colombiana</i> ; <i>Rizophagus irregularis</i> e <i>Acaulospora morrowiae</i>	Stoffel <i>et al.</i> (2016)
<i>Mimosa caesalpinaefolia</i>	<i>Glomus etunicatum</i> ; <i>Acaulospora morrowae</i> e <i>A. longula</i>	Burity <i>et al.</i> (2000)
<i>Mimosa scabrela</i>	<i>Rizophagus irregularis</i> ; <i>Rizophagus clarus</i> ; <i>Acaulospora colombiana</i> ; <i>Acaulospora morrowiae</i> e <i>Dentiscutata heterogama</i>	Stoffel <i>et al.</i> (2016)
<i>Mimosa tenuiflora</i>	<i>Acaulospora</i> , <i>Claroideoglyphus</i> ; <i>Dentiscutata</i> , <i>Funneliformis</i> ; <i>Gigaspora</i> , <i>Rhizoglyphus</i> e <i>Scutellospora</i>	Souza <i>et al.</i> (2016)
<i>Myracrodruon urundeuva</i>	<i>Acaulospora longula</i>	Amorim <i>et al.</i> (2004); Santana (2012); Oliveira <i>et al.</i> (2013)
<i>Parapiptadenia rigida</i>	<i>Acaulospora colombiana</i> ; <i>Rizophagus irregularis</i> e <i>Acaulospora morrowiae</i>	Stoffel <i>et al.</i> (2016)
<i>Peltogyne venosa</i>	<i>Gigaspora margarita</i>	Caldeira <i>et al.</i> (1999)
<i>Peltophorum dubium</i>	<i>Claroideoglyphus etunicatum</i>	Carneiro <i>et al.</i> (1998); Zangaro <i>et al.</i> (2002)
<i>Piptadenia gonoacantha</i>	<i>Rizophagus clarus</i>	Bournaud <i>et al.</i> (2018); Jesus <i>et al.</i> (2005)

Anexo 1. Estudos envolvendo a inoculação de espécies de fungos micorrízicos arbusculares em árvores nativas do Brasil. (*continuação*)

Espécie	FMA's eficientes	Referência
<i>Plathymenia reticulata</i>	<i>Gigaspora margarita</i> ; <i>Dentiscutata heterogama</i> ; <i>Glomus brohultii</i>	Chaves (1996); Pagano <i>et al.</i> (2009); Pagano; Cabello (2011)
<i>Schizolobium parahyba</i>	<i>Rhizoglosum clarum</i>	Carneiro <i>et al.</i> (1996); Carneiro <i>et al.</i> (1998); Gonçalves <i>et al.</i> (2015); Cely <i>et al.</i> (2016)
<i>Senna multijuga</i>	Mistura de <i>Glomus etunicatum</i> , <i>Gigaspora margarita</i> e <i>Acaulospora scrobiculata</i>	Pouyú-Rojas; Siqueira (2000)
<i>Sesbania virgate</i>	<i>Gigaspora margarita</i> e <i>Glomus etunicatum</i>	Moreira <i>et al.</i> (2010)
<i>Simarouba amara</i>	<i>Acaulospora morrowiae</i> ; <i>Acaulospora mellea</i> ; <i>Acaulospora foveata</i>	Oliveira <i>et al.</i> (1999); Lovelock <i>et al.</i> (2003)
<i>Virola sumarinensis</i>	<i>Acaulospora scrobiculata</i> ; <i>Scutellospora calospora</i>	Béreau <i>et al.</i> (1997); Mangan <i>et al.</i> (2010); Eck (2017)
<i>Vochysia maxima</i>	<i>Rhizoglosum mosseae</i> ; <i>Gigaspora margarita</i> e <i>Acaulospora sp.</i>	Chu <i>et al.</i> (2004)
<i>Zeyheria tuberculosa</i>	<i>Gigaspora margarita</i> ; <i>Scutellospora cerradensis</i> ; <i>Racocetra gregaria</i> ; <i>Acaulospora scrobiculata</i> *	Carneiro <i>et al.</i> (1998); Zangaro <i>et al.</i> (2002); Pagano; Scotti (2010)

Referências bibliográficas

- ABREU, H. M. A.; LELES, P. S. S.; MELO, L. A.; FERREIRA, D. H. A. A.; MONTEIRO, F. A. Produção de mudas e crescimento inicial em campo de *Enterolobium contortisiliquum* produzidas em diferentes recipientes. **Floresta**, v. 45, n. 1, p. 141-150, 2015.
- AMORIM, S. M. C.; PAIM, A. C. B.; SILVA, M. G. Efeito do déficit hídrico sobre a colonização endomicorrízica em duas espécies vegetais típicas da região semi-árida do Nordeste. **Revista de Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v. 33, p. 23-26, 2004.
- ANZANELLO, R.; SOUZA, P. V. D. D.; CASAMALI, B. Fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em porta-enxertos micropropagados de videira. **Bragantia**, v. 70, p. 409-415, 2011.
- AZCÓN-AGUILAR, C.; BARCELO, A.; VIDAL, M. T.; VINA, G. Further studies on the influence of mycorrhiza on growth and development of micropropagated avocado plants. **Agronomie**, v. 46, n. 12, p. 837-840, 1992.
- BALZERGUE, C.; CHABAUD, M.; BARKER, D.; BÉCARD, G.; ROCHANGE, S. High phosphate reduces host ability to develop arbuscular mycorrhizal symbiosis without affecting root calcium spiking responses to the fungus. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, n. 426, 2013.
- BÉCARD, G.; FORTIN, J. A. Early events vesicular-arbuscular mycorrhiza formation on Ri T-DNA transformed roots. **New Phytologist**, v. 108, p. 201-218, 1988.
- BÉCARD, G.; PICHÉ, Y. Physiological factors determining vesicular-arbuscular mycorrhizal formation in host and nonhost Ri T-DNA transformed roots. **Canadian Journal of Botany**, v. 68, p. 1260-1264, 1990.
- BECHEM, E. E. T.; NDAH, N. R.; ANDREW, E. E. Mycorrhizal status of some indigenous tree species in the Takamanda rainforest, South West Region, Cameroon. **Journal of Ecology and the Natural Environment**, v. 10, n. 3, p. 41-52, 2018.
- BEGUM, N.; QIN, C.; AHANGER, M. A.; RAZA, S.; KHAN, M. I.; ASHRAF, M.; AHMED, N.; ZHANG, L. Role of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Plant Growth Regulation: Implications in Abiotic Stress Tolerance. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, article 1068, 2018. doi:10.3389/fpls.2019.01068
- BERBARA, R. L. L.; DE SOUSA, F. A.; FONSECA, H. M. A. C. Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição. In: FERNANDES, M. S. (Ed.). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: SBCS, 2006. p. 53-88.
- BÉREAU, M.; GAZEL, M.; GARBAYE, J. Les symbioses mycorrhiziennes des arbres de la forêt tropicale humide de Guyane française. **Canadian Journal of Botany**, v. 75, n. 5, p. 711-716, 1997.
- BIANCIOTTO, V.; LUMINI, E.; LANFRANCO, L.; MINERDI, D.; BONFANTE, P.; PEROTTO, S. Detection and identification of bacterial endosymbionts in arbuscular mycorrhizal fungi belonging to the family Gigasporaceae. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 10, p. 4503-4509, 2000.
- BONN CHALLENGE (2020). Available online at: <https://www.bonnchallenge.org/content/challenge> (accessed March 2020).

BOURNAUD, C. ; JAMES, E. K., DE FARIA, S. M. ; LEBRUN, M. ; MELKONIAN, R. ; DUPONNOIS, R. ; TISSEYRE, P.; MOULIN, L. & PRIN, Y. Interdependency of efficient nodulation and arbuscular mycorrhization in *Piptadenia gonoacantha*, a Brazilian legume tree. **Plant, Cell & Environment**, v. 41, n. 9, pp. 2008-2020, 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa SDA nº 13, de 24 de março de 2011, Aprova as normas sobre especificações, garantias, registro, embalagem e rotulagem dos inoculantes destinados à agricultura, bem como as relações dos micro-organismos autorizados e recomendados para produção de inoculantes no Brasil, na forma dos Anexos I, II e III, desta Instrução Normativa, **Diário Oficial da União**, 12 de julho de 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa SDA nº 30, de 12 de novembro de 2010. Estabelece os métodos oficiais para análise de inoculantes, sua contagem, identificação e análise de pureza. **Diário Oficial da União**, 17 de novembro de 2010.

BRASIL. Presidência da República. Decreto nº 10.375, de 26 de maio de 2020. Institui o Programa Nacional de Bioinsumos e o Conselho Estratégico do Programa Nacional de Bioinsumo. **Diário Oficial da União**, 27 maio de 2020.

BRASIL. Presidência da República. Decreto nº 4.954, de 14 de janeiro de 2004. Aprova o Regulamento da Lei nº 6.894, de 16 de dezembro de 1980, que dispõe sobre a inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes ou biofertilizantes destinados à agricultura, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, 15 de janeiro de 2004.

BRASIL. Presidência da República. Decreto nº 8.972, de 23 de janeiro de 2017. Institui a Política Nacional de Recuperação da Vegetação Nativa. **Diário Oficial da União**, 24 de janeiro de 2017.

BRASIL. Presidência da República. Lei nº 6.894, de 16 de dezembro de 1980. Dispõe sobre a inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes, estimulantes ou biofertilizantes, destinados à agricultura, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, 17 de dezembro de 1980.

BRASIL. Presidência da República. Lei nº 6.934, de 13 de julho de 1981. Altera a Lei nº 6.894, de 16 de dezembro de 1980, que dispõe sobre a inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes, estimulantes, ou biofertilizantes, destinados à agricultura, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, 15 de julho de 1981.

BUCKING, H.; SHACHAR-HILL, Y. Phosphate uptake, transport and transfer by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* is stimulated by increased carbohydrate availability. **New Phytologist**, v. 165: p. 899-912, 2005.

BUNT, A. C. Some physical properties of pot-plant compost and their effect on plant growth. Bulk physical conditioners. **Plant and Soil**, v. 24, n. 2, p. 322-332, 1961.

BURITY, H. A.; LYRA, M. do C. C. P. de; SOUZA, E. S. de; MERGULHAO, A. C. E. S.; SILVA, M. L. R. B. da. Efetividade da inoculação com rizóbio e fungos micorrízicos arbusculares em mudas de sabia submetidas a diferentes níveis de fósforo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 4, p. 801-807, abr. 2000.

CALDEIRA, M. V. W.; SILVA, E. M. R. da; FRANCO, A. A.; WATZLAWICK, L. F. Influência de fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de três leguminosas arbóreas. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v. 1, n. 1, p. 27-32, 2003.

CALDEIRA, M. V. W.; SILVA, E. M. R. D.; FRANCO, A. A.; ZANON, M. L. B. Comportamento de mudas de leguminosas arbóreas inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares. **Ciência Florestal**, v. 9, n. 1, p. 135-142, 1999.

CARMO, É. R.; SILVA, C. F.; FREITAS, M. S. M.; LIMA, K. B.; MARTINS, M. A. Production of australian cedar seedlings inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi in different types of containers. **Revista Árvore**, v. 40, n. 2, 269-278, 2016.

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; DAVIDE, A. C.; GOMES, L. J.; CURI, N.; VALE, F. R. Fungo micorrízico e superfosfato no crescimento de espécies arbóreas tropicais. **Scientia Forestalis**, n. 50, p. 21-36, 1996.

CARNEIRO, M. A.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; CARVALHO, D. BOTELHO, S. A.; JUNIOR, O. J. S. Micorriza arbuscular em espécies arbóreas e arbustivas nativas de ocorrência no sudeste do Brasil. **Cerne**, v. 4, n. 1, p. 129-145, 1998.

CELY, M. V. T.; SIVIERO, M. A.; EMILIANO, J.; SPAGO, F. R.; FREITAS, V. F.; BARAZETTI, A. R.; GOYA, E. T.; LAMBERTI, G. D. S.; DOS SANTOS, I. M. O.; OLIVEIRA, A. G. de; ANDRADE, G. Inoculation of *Schizolobium parahyba* with mycorrhizal fungi and plant growth-promoting rhizobacteria increases wood yield under field conditions. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. 1708, 2016.

CHAVES, J. H.; REIS, G. G. D.; REIS, M. D. G. F.; NEVES, J. C. L.; PEZZOPANE, J. E. M.; POLLI, H. Q. Seleção precoce de clones de eucalipto para ambientes com disponibilidade diferenciada de água no solo: relações hídricas de plantas em tubetes. **Revista Árvore**, v. 28, n. 3, p. 333-341, 2004.

CHAVES, L. de F. de. C. Absorção de fósforo por mudas de jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. Allem.) e de vinhático (*Plathymenia foliosa* Benth.) na presença de *Gigaspora margarita* Gerd. E Taxt. 1996. Tese. (Doutorado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, 1996.

CHAVES, L. de F. de. C.; BORGES, R. C. G. Eficiência micorrízica na produção de jacarandá-da-bahia cultivadas em diferentes doses de fósforo. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 27, p. 587-594, 2005.

CHAVES, L. de F. de. C.; BORGES, R. D. C. G.; NEVES, J. C. L.; REGAZZI, A. J. Crescimento de mudas de Jacarandá-da-Bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. Allem.) em resposta a inoculação com fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em diferentes níveis de fósforo no solo. **Revista Árvore**, v. 19, n. 1, p. 32-49, 1995.

CHI, G. G.; SRIVASTAVA, A. K.; WU, Q. S. Exogenous easily extractable glomalin-related soil protein improves drought tolerance of *Trifoliate orange*. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 64, n. 10, p. 1341-1350, 2018.

CHILTON, M.-D.; TEPFER, D. A.; PETIT, A.; DAVID, C.; CASSE-DELBART, F.; TEMPÉ, J. *Agrobacterium rhizogenes* inserts T-DNA into the genomes of the host plant root cells. **Nature**, v. 295, p. 432, 1982.

CHU, E. Y.; YARED, J. A. G.; MAKI, H. J.-I. O. Efeitos da inoculação micorrízica e da adubação fosfatada em mudas de *Vochysia maxima* Ducke. **Revista Árvore**, v. 28, p. 157-165, 2004.

DEHNE, H. W.; BACKHAUS, G. F. The use of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in plant production. I. Inoculum production. **J. Plant Diseases and Protection**, 92: 415-424, 1986.

DOUDS JUNIOR, D. D.; NAGAHASHI, G.; PFEFFER, P. E.; KAYSER, W. M.; REIDER, C. On-farm production and utilization of arbuscular mycorrhizal fungus inoculum. **Canadian Journal of Plant Science**, 85, n. 1, p. 15-21, 2005.

ECK, J. L. **Variation in tropical tree seedling survival, growth, and colonization by arbuscular mycorrhizal fungi near conspecific adults: field and shadehouse experiments in Panama**. 2017. 163 f. Tesis. (Doctor of Philosophy) - The Ohio State University, Columbus, 2017.

FELDMANN, F.; IDCZAK, E. Inoculum production of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for use in tropical nurseries. In: NORRIS, J. R.; READ, D. J.; VARMA, A. K., (eds.) **Methods in microbiology**. San Diego, Academic Press, 1992. p. 339-357.

FRANCO, A. A.; CAMPELLO, E. F. C.; SILVA, E. M. R. da; FARIA, S. M. de. Revegetação de solos degradados. Seropédica: EMBRAPA-CNPAB, 1992. 8 f. (EMBRAPA-CNPAB. Comunicado Técnico, 9).

FRANCO, A. A.; FARIA, S. M. de. The contribution of N₂-fixing tree legumes to land reclamation and sustainability in the tropics. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 29, n.5-6, p. 897-903, 1997.

FREIRE, J. M.; FARIA, S. M. D.; ZILLI, J. E.; SAGGIN, O. J.; CAMARGO, I. S.; ROUWS, J. R. C.; JESUS, E. da. C. Symbiotic efficiency of inoculation with nitrogen-fixing bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi in *Tachigali vulgaris* seedlings. **Revista Árvore**, vol. 44:e4424, 2020.

GAO, W. Q. ; WANG, P. ; WU, Q. S. Functions and Application of Glomalin-Related Soil Proteins: A Review. **Sains Malaysiana**, v. 48, n. 1, pp. 111–119, 2019.

GARCIA, G. O.; MARTINS FILHO, S.; REIS, E. F. dos; MORAES, W. B.; NAZÁRIO, A de A. Alterações químicas de dois solos irrigados com água salina. **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, n. 01, p. 7-18, 2008.

GILLESPIE, A. W.; FARRELL, R. E.; WALLEY, F. L.; ROSS, A. R. S.; LEINWEBER, P.; ECKHARDT, K.-U.; REGIER, T. Z.; BLYTH, R. I. R. Glomalin-related soil protein contains non-mycorrhizal-related heat-stable proteins, lipids and humic materials. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 43, n. 4, p. 766–777, 2011.

GOMES JÚNIOR, G. A.; PEREIRA, R. A.; GROSS, E. Dependência micorrízica e produção de glomalina por fungos micorrízicos arbusculares inoculados em graviola adubada com composto orgânico da casca de cacau. **Ciência Agrícola**, v. 16, pp. 21-25, 2018.

GOMES, M. P.; MOREIRA, D. D.; SILVA, M. P. L.; CARVALHO, B. L.; MATHEUS, M. T.; GARCIA, Q. S. The effects of arsenic on the growth and nutritional status of *Anadenanthera peregrina*, a Brazilian savanna tree. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 175, n. 3, p. 466-473, 2012.

GONÇALVES, P. J. R. D. O.; OLIVEIRA, A. G.; FREITAS, V. F.; CHIARI, N. A.; NAVARRO, M. P.; CELY, M. T.; LEAL, A. C.; ANDRADE, G. Plant growth-promoting microbial inoculant for *Schizolobium parahyba* pv. *parahyba*. **Revista Árvore**, v. 39, p. 663-670, 2015.

GONZAGA, L. D. M.; SILVA, S. S. D.; CAMPOS, S. D. A.; FERREIRA, R. D. P.; CAMPOS, A. N. D. R.; CUNHA, A. C. M. C. M. D. Evaluation of substrates and amf sporulation in the production of seedlings of native forest species. **Revista Árvore**, v. 40, p. 245-254, 2016.

GONZÁLEZ-CHÁVEZ, M. C.; CARRILLO-GONZÁLEZ, R.; GUTIÉRREZ-CASTORENA, M. C. Natural attenuation in a slag heap contaminated with cadmium: the role of plants and arbuscular mycorrhizal fungi. **Journal Hazard Material**, v. 161, p. 1288-1298, 2009.

GROSS, E.; CORDEIRO, L.; CAETANO, F. H. Nodulação e micorrização em *Anadenanthera peregrina* var. *falcata* em solo de cerrado autoclavado e não autoclavado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, n. 1, p. 95-101, 2004.

HAAS, J. H.; MENGE, J. A. VA mycorrhizal fungi and soil characteristics in avocado (*Persea americana* Mill.) orchard soil. **Plant and Soil**, v. 127, n. 2, p. 207-212, 1990.

HE, J. D.; CHI, G. G.; ZOU, Y.-N.; SHU, B., WU, Q. S. SRIVASTAVA, A. K., KUČA, K. Contribution of glomalin-related soil proteins to soil organic carbon in *Trifoliate orange*. **Applied Soil Ecology**, v. 154, 103592, 2020.

HERNÁNDEZ, W.; SALAS, E. La inoculación con *Glomus fasciculatum* en el crecimiento de cuatro especies forestales en vivero y campo. **Agronomía Costarricense**, v. 33, n. 1, p. 17-30, 2009.

HILDEBRANDT, U.; JANETTA, K.; BOTHE, H. Towards growth of arbuscular mycorrhizal fungi independent of a plant host. **Applied Environmental Microbiology**, v. 68, n. 4, p. 1919-1924, 2002.

HILDEBRANDT, U.; OUZIAD, F.; MARNER, F. J.; BOTHE, H. The bacterium *Paenibacillus validus* stimulates growth of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* up to the formation of fertile spores. **FEMS Microbiology Letters**, v. 254, n. 2, p. 258-267, 2006.

HOFFMANN, A.; PASQUAL, M.; CHALFUN, N. N. J.; FRÁGUAS, C. B. Efeito de substratos na aclimatização de plantas micropropagadas de porta-enxertos de macieira "Marubakaido". **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, pp. 462-467, 2001.

HOPPE, J. M.; SCHUMACHER, M. V.; QUEVEDO, F. F.; GENRO, C. J. M.; THOMAS, R.; VIVIAN, J.C.; FONTTANA, T. Uso do bacsol na decomposição de resíduos orgânico urbano. Santa Maria: UFSM-FATEC, 2004. 119 p.

HUANTE, P.; CECCON, E.; OROZCO-SEGOVIA, A.; SÁNCHEZ-CORONADO, M. E.; ACOSTA, I.; RINCÓN, E. The role of arbuscular mycorrhizal fungi on the early-stage restoration of seasonally dry tropical forest in Chamela, Mexico. **Revista Árvore**, v. 36, p. 279-289, 2012.

JANOS, D. P.; SCOTT, J.; ARISTIZÁBAL, C.; BOWMAN, D. M. J. S. Arbuscular-mycorrhizal networks inhibit eucalyptus tetrodonta seedlings in rain forest soil microcosms. **PLOS ONE**, v. 8, n. 2, p. e57716, 2013.

JARSTFER, A. G.; SYLVIA, D. M. Aeroponic culture of VAM fungi. In: VARMA, A.; HOCK, B. (eds.) **Mycorrhiza**. Heidelberg: Springer-Verlag, 1995.

JESUS, E. da C.; SCHIAVO, J. A.; FARIA, S. M. Dependência de micorrizas para a nodulação de leguminosas arbóreas tropicais. **Revista Árvore**, v. 29, n. 4, p. 545-552, 2005.

JIANG, Y.; XIE, Q.; WANG, W.; YANG, J.; ZHANG, X.; YU, N.; ZHOU, Y.; WANG, E. Medicago AP2-domain transcription factor WRI5a is a master regulator of lipid biosynthesis and transfer during mycorrhizal symbiosis. **Molecular Plant**, v. 11, n. 11, p. 1344-1359, 2018.

KAMEOKA, H.; TSUTSUI, I.; SAITO, K.; KIKUCHI, Y.; HANDA, Y.; EZAWA, T.; HAYASHI, H.; KAWAGUCHI, M.; AKIYAMA, K. Stimulation of asymbiotic sporulation in arbuscular mycorrhizal fungi by fatty acids. **Nature Microbiology**, v. 4, n. 10, p. 1654-1660, 2019.

KEYMER, A. ; PIMPRIKAR, P. ; WEWER, V. ; HUBER, C.; BRANDS, M.; BUCERIUS, S. L.; DELAUX, P. M.; KLINGL, V.; RÖPENACK-LAHAYE, E. V.; WANG, T. L.; EISENREICH, W.; DÖRMANN, P.; PARNISKE, M.; GUTJAHR, C. Lipid transfer from plants to arbuscular mycorrhiza fungi. **eLife**, v. 6, e29107, p. 1-33, 2017.

KOIDE, R. T. Nutrient supply, nutrient demand and plant response to mycorrhizal infection. **New Phytologist**, v. 117, n. 3, p. 365-386, 1991.

KOIDE, R. T.; PEOPLES, M. S. Behavior of bradford-reactive substances is consistent with predictions for glomalin. **Applied Soil Ecology**, v. 63, p. 8-14, 2013.

KOKKORIS, V.; HART, M. In vitro propagation of arbuscular mycorrhizal fungi may drive fungal evolution. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, n. 2420, 2019.

LACERDA, K. A. P.; SILVA, M. M. S.; CARNEIRO, M. A. C.; REIS, E. F.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J. Fungos micorrízicos arbusculares e adubação fosfatada no crescimento inicial de seis espécies arbóreas do cerrado. **Cerne**, v. 17, p. 377-386, 2011.

LOVELOCK, C. E.; ANDERSEN, K.; MORTON, J. B. Arbuscular mycorrhizal communities in tropical forests are affected by host tree species and environment. **Oecologia**, v. 135, n. 2, p. 268-279, 2003.

MANGAN, S. A.; HERRE, E. A.; BEVER, J. D. Specificity between Neotropical tree seedlings and their fungal mutualists leads to plant-soil feedback. **Ecology**, v. 91, n. 9, p. 2594-2603, 2010.

MARQUES, M. S.; PAGANO, M.; SCOTTI, M. R. M. M. L. Dual inoculation of a woody legume (*Centropogon tomentosus*) with rhizobia and mycorrhizal fungi in south-eastern Brazil. **Agroforestry Systems**, v. 52, n. 2, p. 107-117, 2001.

MELO, K. C. B.; COELHO, I. R.; SANTANA, A. S. de; SILVA CAMPOS, M. A. da; SILVA, F. S. B. Fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e substratos para produção de mudas de angico-preto (*Anadenanthera colubrina* (Vell) Brenan) do CONGRESSO BRASILEIRO DE BOTÂNICA 60º CNBot, 60, 2009. Feira de Santana. **Botânica Brasileira: futuro e compromissos: anais...** Brasília: Sociedade Botânica do Brasil, 2009.

MORAES, L. F. D. de; ASSUMPÇÃO, J. M.; PEREIRA, T. S.; LUCHIARI, C. **Manual técnico para a restauração de áreas degradadas no Estado do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro: Instituto Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013. 84 p.

SILVA, A. P. M. da; SCHWEIZER, D.; RODRIGUES MARQUES, H.; CORDEIRO TEIXEIRA, A. M.; NASCENTE DOS SANTOS, T. V.; SAMBUICHI, R. H.; BRANCALION, P. H. Can current native tree seedling production and infrastructure meet an increasing forest restoration demand in Brazil? **Restoration Ecology**, v. 25, n. 4, p. 509-515, 2017.

MOREIRA, F. M. de S. CARVALHO, T. S.; SIQUEIRA, J. O. Effect of fertilizers, lime, and inoculation with rhizobia and mycorrhizal fungi on the growth of four leguminous tree species in a low-fertility soil. **Biology and Fertility of Soils**, v. 46, n. 8, p. 771-779, 2010.

MOREIRA, F. M. de S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2006.

MOREIRA-SOUZA, M.; CARDOSO, E. J. B. N. Dependência micorrízica de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. sob doses de fósforo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 26, p. 905-912, 2002.

MUGNIER, J.; MOSSE, B. Vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in transformed root-inducing T-DNA roots grown axenically. **Phytopathology**, v. 77, p. 1045-1050, 1987.

NICHOLS, K. A. Indirect contributions of AM fungi and soil aggregation to plant growth and protection. In: SIDDIQUI Z. A.; AKHTAR, M. S.; FUTAI, K. (eds.) **Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry**. Heidelberg: Springer Science, 2008. p. 177-194.

OLIVEIRA, L. A. D.; GUITTON, T. L.; MOREIRA, F. W. Relações entre as colonizações por fungos micorrízicos arbusculares e teores de nutrientes foliares em oito espécies florestais da Amazônia. **Acta Amazonica**, v. 29, p. 183-193, 1999.

OLIVEIRA, M. D. S.; CAMPOS, M. A. da S.; ALBUQUERQUE, U. P. de; SILVA, F. S. B. da. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) affects biomolecules content in *Myracrodruon urundeuva* seedlings. **Industrial Crops and Products**, v. 50, p. 244-247, 2013.

OLIVEIRA JUNIOR, J. Q. de; FONSECA JÚNIOR, A. M. F.; SOUZA, R. C. S.; JESUS, E. da C.; PEREIRA, M. G. Inoculação de fungos micorrízicos e desenvolvimento da espécie *Apuleia leiocarpa* (Vogel). In: CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL, 12. 2015, São Lourenço. **Anais eletrônicos...** São Lourenço: Sociedade de Ecologia do Brasil, 2015.

OLIVEIRA JUNIOR, J. Q. de; JESUS, E. da C.; PEREIRA, M. G.; CAMARA, R.; FONSECA JÚNIOR, A. M. F.; SOUZA, A. C. O. Dependency and response of *Apuleia leiocarpa* to inoculation with different species of arbuscular mycorrhizal fungi. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 41, e0160174, 2017.

PAGANO, M. C.; CABELLO, M. N. mycorrhizal interactions for reforestation: constraints to dryland agroforest in Brazil. **ISRN Ecology**, v. 2011, Article ID 890850, 2011.

PAGANO, M. C.; SCOTTI, M. R.; CABELLO, M. N. Effect of the inoculation and distribution of mycorrhizae in *Plathymenia reticulata* Benth under monoculture and mixed plantation in Brazil. **New Forests**, v. 38, n. 2, p. 197-214, 2009.

PAGANO, M. C.; SCOTTI, M. R. Effect of phosphorus fertilization on arbuscular mycorrhizal colonization of *zeyheria tuberculosa* a native species in Brazil's Forest. **Middle-East Journal of Scientific Research**, v. 6, n. 6, p. 604-611, 2010.

PATREZE, C. M.; CORDEIRO, L. Nitrogen-fixing and vesicular–arbuscular mycorrhizal symbioses in some tropical legume trees of tribe Mimoseae. **Forest Ecology and Management**, n. 196, p. 275-285, 2004.

PENNOCK, D.; MCKENZIE, N.; MONTANARELLA, L. **Status of the world's soil resources: technical summary**. Rome: FAO, 2015.

PLENCHETTE, C.; FURLAN, V.; FORTIN, J. A. Effects of different endomycorrhizal fungi on five host plants grown on calcined montmorillonite. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 107, p. 535-538, 1982.

PNUMA. **Emerging Issues of Environmental Concern**. Disponível em: https://environmentlive.unep.org/media/docs/assessments/UNEP_Frontiers_2016_report_emerging_issues_of_environmental_concern.pdf. Acesso em: 12 abr. 2021.

POUYÚ-ROJAS, E.; SIQUEIRA, J. O. Micorriza arbuscular e fertilização do solo no desenvolvimento pós-transplante de mudas de sete espécies florestais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 1, p. 103-114, 2000.

POUYU-ROJAS, E.; SIQUEIRA, J. O.; SANTOS, J. G. D. Compatibilidade simbiótica de fungos micorrízicos arbusculares com espécies arbóreas tropicais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, p. 413-424, 2006.

RIAZ, M.; KAMRAN, M.; FANG, Y.; WANG, Q.; CAO, H.; YANG, G.; DENG, L.; WANG, Y.; ZHOU, Y.; ANASTOPOULOS, I.; WANG, X. Arbuscular mycorrhizal fungi-induced mitigation of heavy metal phytotoxicity in metal contaminated soils: a critical review. **Journal of Hazardous Materials**, v. 402, n. 15, 123919. 2021.

RILLIG, M. C. Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. **Canadian Journal of Soil Science**. v. 84, p. 355–363, 2004.

ROCHA, F. S.; SAGGIN JÚNIOR, O. J.; SILVA, E. M. R. D.; LIMA, W. L. D. Dependência e resposta de mudas de cedro a fungos micorrízicos arbusculares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 1, p. 77-84, 2006.

SACCO, J. C. Ocorrência de micorriza em algumas invasoras. **Boletim do Instituto de Ecologia Experimental Agrícola**, v. 23, p. 4145, 1962.

SAGGIN JUNIOR, O. J.; SILVA, E. M. R. da. Production of seedlings inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and their performance after outplanting. In: RAI, M. K. (Org). **Handbook of microbial biofertilizers**. Boca Raton: CRC Press, 2006. p. 353- 394.

SAMARÃO, S. S.; RODRIGUES, L. A.; MARTINS, M. A.; MANHÃES, T. N.; ALVIM, L. A. M. Desempenho de mudas de gravioleira inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares em solo nãoesterilizado, com diferentes doses de fósforo. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 33, n. 1, p. 81-88, 2011.

SANTANA, A. S. D. **Eficiência micorrízica em espécies de plantas medicinais da caatinga em diferentes substratos**. 2012. 59 f. Dissertação. (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012.

SANTIAGO, G. M.; GARCIA, Q. & SCOTTI, M. R. Effect of post-planting inoculation with *Bradyrhizobium* sp and mycorrhizal fungi on the growth of brazilian rosewood, *Dalbergia nigra* Allem. ex. Benth., in two tropical soils. **New Forests**, v. 24, n. 1, p. 15-25, 2002.

SANTOS, G. **Substratos e fungos micorrízicos arbusculares para produção de mudas de espécies arbóreas nativas da Mata Atlântica**. 2018. Dissertação. (Mestrado em Ciências Ambientais e Florestais) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2018.

SANTOS, L. C. **Efeito do cobre na população de bactérias e fungos do solo, associação ectomicorrízica e no desenvolvimento de mudas de Eucalipto e Canafístula**. 2007 Dissertação. (Mestrado em Ciências do Solo) - Universidade Federal de Santa Maria, 2006.

SANTOS, R. S., SCORIZA, R. N., DA SILVA, E. M. R.; JÚNIOR, O. J. S. Selection of mycorrhizal fungi for the initial growth of *Albizia polycephala*. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 11, n. 2, p. 98-103, 2016.

SCABORA, M. H.; MALTONI, K. L.; CASSIOLATO, A. M. R. Associação micorrízica em espécies arbóreas, atividade microbiana e fertilidade do solo em áreas degradadas de cerrado. **Ciência Florestal**, v. 21, n. 2, p. 289-301, 2011.

- SCHINDLER, U.; MÜLLER, L.; EULENSTEIN, F. Hydraulic performance of horticultural substrates - 1. Method for measuring the hydraulic quality indicators. **Horticulturae**, v. 3, n.5, p.1-7, 2017.
- SCHÜBLER, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER, C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phygeny and evolution. **Mycological Research**, v. 105, p. 1413-1421, 2001.
- SCHÜBLER, A.; WALKER, C. **The Glomeromycota**: a species list with new families and new genera. .2010. 56 p. Disponível em: <http://www.amf-phylogeny.com>. Acesso em: 06 ago. 2021.
- SIERRA-ESCOBAR, J. A.; CASTRO-RESTREPO, D.; OSÓRIO-VEGA, W. Dependencia micorrízica de barcino (Clusiaceae: Calophyllum brasiliense Cambers). **Actualidades Biológicas**, v. 34, p. 199-206, 2012.
- SIEVERDING, E. **Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems**. Eschborn, Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ), 1991. 372p.
- SILVA, E. N. D.; TAVARES, A. T.; SILVA, C. P. D.; FERREIRA, T. A.; CARLINE, J. V. G.; NASCIMENTO, I. R. Fungos micorrízicos arbusculares e doses de fósforo no desenvolvimento de mudas de guanandi. **Nativa**, v. 6, n. 3, p. 246-251, 2018.
- SIQUEIRA, J. O.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J. Dependency on arbuscular mycorrhizal fungi and responsiveness of some Brazilian native woody species. **Mycorrhiza**, v. 11, n. 5, p. 245-255, 2001.
- SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal symbiosis**. London: Academic Press, 1997, 605p.
- SMITH, S. E.; SMITH, F. A. Roles of Arbuscular Mycorrhizas in Plant Nutrition and Growth: New Paradigms from Cellular to Ecosystem Scales. **Annual Review of Plant Biology**, v. 62, n. 1, p. 227-250, 2011.
- SOUZA, R. C.; PEREIRA, M. G.; GIÁCOMO, R. G.; DA SILVA, E. M. R. & DE MENEZES, L. F. T. Produção de mudas micorrizadas de *Schinus terebinthifolius* Raddi. em diferentes substratos. **Floresta**, v. 39, n. 1, p. 197-206, 2009.
- SOUZA, T. A. F. D.; RODRIGUEZ-ECHEVERRÍA, S.; ANDRADE, L. A. D. & FREITAS, H. Arbuscular mycorrhizal fungi in *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir from Brazilian semi-arid. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, p. 359-366, 2016.
- SPAGNOLETTI, F. ; CARMONA, M. ; GÓMEZ, N. E. T. ; CHIOCCHIO, V. ; LAVADO, R. S. Arbuscular mycorrhiza reduces the negative effects of *M. phaseolina* on soybean plants in arsenic-contaminated soils. **Applied Soil Ecology**, v. 121, p. 41-47, 2017.
- STOFFEL, S. C. G.; ARMAS, R. D. D.; GIACHINI, A. J.; ROSSI, M. J.; GONZALEZ, D., MEYER, E.; ... & SOARES, C. R. F. S. Micorrizas arbusculares no crescimento de leguminosas arbóreas em substrato contendo rejeito de mineração de carvão. **Cerne**, v. 22, pp. 181-188, 2016.
- SYLVIA, D. M.; HUBBELL, D. H. Growth and sporulation of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in aeroponic and membrane systems. **Symbiosis**, v. 1, p. 259-267, 1986.
- SYLVIA, D. M.; WILLIAMS, S. E. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and environmental stress. In: BETHLENFALVAY, G.J.; LINDERMAN, R.G. (Eds.). **Mycorrhizae in sustainable agriculture**. Madison: ASA Special Publication, 1992, p.101-124.

TANAKA, S., HASHIMOTO, K., KOBAYASHI, Y., YANO, K.; MAEDA, T., KAMEOKA, H., EZAWA, T., SAITO, K., AKIYAMA, K., KAWAGUCHI, M. Asymbiotic mass production of the arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus clarus*. bioRxiv. Preprint 2020. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.12.25.424379v1> Published in Communications Biology, v. 5, n. 1, 12 Jan. 2022.

TAVARES, S. R. T.; FRANCO, A. A.; SILVA, E. M. R. da. Resposta de sabiá *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. a inoculações com rizóbio e micorriza em diferentes níveis de fósforo em solo de restinga degradado. **HOLOS**, v. 4, p. 36-55, 2016.

TILMAN, D.; BALZER, C.; HILL, J.; BEFORT, B. L. Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. **Proceedings. National. Academy of Science**, v. 108, n. 50, p. 20260-20264, 2011.

TÓTOLA, M. R.; BORGES, A. C. Growth and nutritional status of Brazilian wood species *Cedrella fissilis* and *Anadenanthera peregrina* in bauxite spoil in response to arbuscular mycorrhizal inoculation and substrate amendment. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 31, p. 257-265, 2000.

TRAPPE, J. M. A. B. Frank and mycorrhizae: the challenge to evolutionary and ecologic theory. **Mycorrhiza**, v. 15, p. 277-281, 2005.

TRISTÃO, F. S. M.; ANDRADE, S. A. L.; SILVEIRA, A. P. D. Fungos micorrízicos arbusculares na formação de mudas de cafeeiro, em substratos orgânicos comerciais. **Bragantia: Revista de Ciências Agronômicas**, v. 65, n. 4, p. 649-658, 2006.

VAN DER HEIJDEN, M. G.; KLIRONOMOS, J. N.; URSIC, M.; MOUTOGLIS, P.; STREITWOLF-ENGEL, R.; BOLLER, T.; WIEMKEN, A.; SANDERS, I. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. **Nature**, v. 396, n. 6706, p. 69-72, 1998.

VANDRESEN, J.; NISHIDATE, F. R.; TOREZAN, J. M. D.; ZANGARO, W. Inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e adubação na formação e pós-transplante de mudas de cinco espécies arbóreas nativas do sul do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, n. 4, p. 753-765, 2007.

VODNIK, D.; GROMAN, H.; MALEK, I.; VAN ELTEREN, J. T.; KOVAČEVIČ, M. The contribution of glomalin-related soil protein to Pb and Zn sequestration in polluted soil. **Science of The Total Environment**, v. 392, p. 130-136, 2008.

WANG, S.; SRIVASTAVA, A. K.; WU, Q. S.; FOKOM, R. The effect of mycorrhizal inoculation on the rhizosphere properties of *Trifoliate orange* (*Poncirus trifoliata* L. Raf.). **Scientia Horticulturae**, v. 170, p. 137-142, 2014.

WANG, S.; WU, Q. S.; HE, X. H. Exogenous easily extractable glomalin-related soil protein promotes soil aggregation, relevant soil enzyme activities and plant growth in *Trifoliate orange*. **Plant, Soil and Environment**, v. 61, p. 66-71, 2015.

WU, Q. S.; CAO, M. Q.; ZOU, Y. N.; HE, X. H. Direct and indirect effects of glomalin, mycorrhizal hyphae, and roots on aggregate stability in rhizosphere of *Trifoliate orange*. **Scientific Reports**, v. 4, 5823, 2014a.

WU, Q. S.; HUANG, Y. M.; LI, Y.; NASRULLAH, HE. X. H. Contribution of arbuscular mycorrhizas to glomalin related soil protein, soil organic carbon and aggregate stability in citrus rhizosphere. **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 1616, p. 207-212, 2014b.

ZANGARO, W.; NISHIDATE, F. R.; CAMARGO, F. R. S.; ROMAGNOLI, G. G.; VANDRESSEN, J. Relationships among arbuscular mycorrhizas, root morphology and seedling growth of tropical native woody species in southern Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, v. 21, n. 5, p. 529-540, 2005.

ZANGARO, W.; NISIZAKI, S. M. A.; DOMINGOS, J. C. B.; NAKANO, E. M. Micorriza arbuscular em espécies arbóreas nativas da bacia do Rio Tibagi, Paraná. **Cerne**, v. 8, n. 1, p. 77-87, 2002.

ZANGARO, W.; NISIZAKI, S. M. A.; DOMINGOS, J. C. B.; NAKANO, E. M. Mycorrhizal response and successional status in 80 woody species from south Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, v. 19, n. 3, p. 315-324, 2003.

ZHANG, Q. M.; GONG, M.; LIU, K. CHEN, Y.; YUAN, J; CHANG, Q. Rhizoglomus intraradices improves plant growth, root morphology and phytohormone balance of *Robinia pseudoacacia* in arsenic-contaminated soils. **Frontiers in Microbiology**. v. 11, 1428, 2020.

ZOU, Y. N.; SRIVASTAVA, A. K.; WU, Q. S. Glomalin: A potential soil conditioner for perennial fruits. **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 18, p. 293-297, 2016.

ZOU, Y. N.; SRIVASTAVA, A. K.; WU, Q. S.; HUANG, Y. M. Glomalin-related soil protein and water relations in mycorrhizal citrus (*Citrus tangerina*) during soil water deficit. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 60, p. 1103-1114, 2014.

Embrapa

Agrobiologia

MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



PÁTRIA AMADA
BRASIL
GOVERNO FEDERAL