

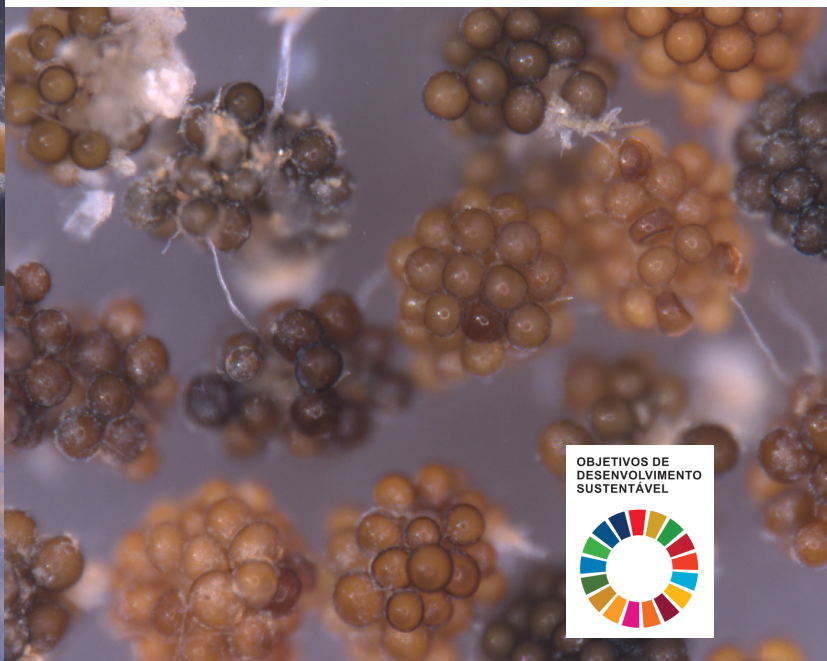
CIRCULAR TÉCNICA

276

Sete Lagoas, MG
Outubro, 2021

Fungo micorrízico arbuscular com potencial para o desenvolvimento de inoculante para a cultura do milho e para a produção de mudas florestais

Francisco Adriano de Souza
Lucas Henrique Santos Macena
Carlos César Gomes-Júnior
Karinne Miranda Rodrigues Medeiros
Andréa Almeida Carneiro



OBJETIVOS DE
DESENVOLVIMENTO
SUSTENTÁVEL



Fungo micorrízico arbuscular com potencial para o desenvolvimento de inoculante para a cultura do milho e para a produção de mudas florestais¹

Introdução

A inoculação de plantas com microrganismos benéficos é reconhecida como uma tecnologia capaz de aumentar a produtividade das lavouras aliando ganhos de produção, com benefícios econômicos e ambientais. As plantas se associam com diversos grupos de microrganismos benéficos, como bactérias e fungos. O primeiro passo para o desenvolvimento de um bioinsumo é a identificação do potencial biotecnológico dos microrganismos, em termos de ação favorável ao crescimento de plantas e potencial para produção industrial.

Os fungos micorrízicos arbusculares (MA) formam um grupo de microrganismos simbiotes de plantas que apresentam resultados favoráveis para inúmeras culturas agrícolas e florestais (Smith; Read, 2008; Berruti et al., 2016). Resultados de 231 experimentos em campo em área de produtores de batata-inglesa inoculada com o fungo *Rhizogloium irregulares* DAOM 197198 mostraram ganhos econômicos em 79% das áreas (Europa e América do Norte). Para milho, a inoculação em campo com o fungo *Rhizogloium intraradices* Rootella BR em cinco localidades no Brasil resultou em ganhos médios de produção de grãos da ordem de 54%, as maiores respostas foram obtidas em solos que originalmente continham baixos a médios níveis de P disponível (Stoffel et al., 2020). O principal mecanismo de ações dos fungos

¹ Francisco Adriano de Souza, Engenheiro-Agrônomo, Doutor em Ecologia, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Lucas Henrique Santos Macena, estudante de Engenharia Florestal da Universidade Federal de São João Del Rei, Campus de Sete Lagoas, MG; Carlos César Gomes Júnior, estudante de doutorado da Universidade Federal de Viçosa; Karinne Miranda Rodrigues Medeiros, estudante de Ciências Biológicas do Centro Universitário Unifem; Andréa Almeida Carneiro, Bióloga, Doutora em Ciência das Plantas, Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo.

MA é o aumento da área efetiva de absorção de água e nutrientes promovido pelo micélio (conjunto de hifas) fúngico e transporte e troca com a planta simbiote por açúcares e lipídeos (Smith; Read, 2008; Berruti et al., 2016).

O principal obstáculo à utilização ampla destes fungos está na dificuldade de produção, em larga escala, de inoculantes que atendam as especificações do mercado, em termos de custo, pureza e qualidade. Os fungos MA são biotróficos obrigatórios, ou seja, dependem do estabelecimento de simbiose com raízes de plantas compatíveis para completar seu ciclo de vida. Esta característica dificulta a produção asséptica de inoculante e seu registro no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa).

A produção massal de inóculo de fungos MA, sem contaminantes, tem sido obtida por meio da associação do fungo com culturas de órgãos radiculares, principalmente em raízes transformadas por *Rhizobium rhizogenes* (anteriormente *Agrobacterium rhizogenes*) (Tahir et al., 2015; Fortin et al., 2002; Ijdo et al., 2011). No entanto, o número de espécies/estirpes de fungos MA comercializadas globalmente ainda é baixo (Basiru et al., 2021). Os produtos comercializados normalmente contêm espécies pertencentes a apenas três gêneros da família *Glomeraceae* - *Claroideoglomus*, *Funnelformis* e *Rhizoglosum* (sinônimo - *Rhizophagus*, Wijayawardene et al., 2020), porém a grande maioria dos produtos é formulada com *Rhizoglosum* (Basiru et al., 2021). Espécies de *Rhizoglosum* apresentam boa adaptação para produção de inóculo em sistemas monoxênicos - fungo associado a cultura de raízes Ri T-DNA, e dependendo da espécie podem ser capazes de produzir centenas a milhares de propágulos em curtos períodos de tempo (Souza et al., 2005).

Atualmente, existe um inoculante comercial composto por fungos MA registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) - Rootella BR, sob nº 22902 10000-0 (Stoffel et al., 2020). Este inoculante contém o fungo *Rhizoglosum intraradices* (*Rhizophagus intraradices*). Além dessa espécie, o *Rhizoglosum clarum* também vem sendo testado em campo no Brasil (Cely et al., 2016; Barazetti et al., 2019), porém sem registro comercial.

Aqui apresentamos resultados obtidos com uma estirpe de *Rhizoglosum* isolada da Amazônia, que apresentou alta efetividade para inoculação de milho e jacarandá-da-Bahia, e alto potencial para produção massal de inóculo em sistema monoxênico-asséptico. E apresentamos também resultados

promissores com uma linhagem clonal de raízes Ri T-DNA de cenoura para cultivo monoxênico deste fungo. Este trabalho contribui para o atendimento dos ODS 2. “Agricultura Sustentável” ODS 2.4, pelo desenvolvimento de práticas agrícolas resilientes e que aumentam a produtividade e a produção que ajudam a manter os ecossistemas. E também para o ODS 15. “Vida terrestre” - Proteger, recuperar e promover o uso sustentável dos ecossistemas terrestres, gerir de forma sustentável as florestas e deter a perda de biodiversidade.

Material e Métodos

Origem e registro da estirpe

A estirpe *Rhizoglyphus* sp2 CNPMS11 pertence à Coleção de Microrganismos Multifuncionais e Fitopatogênicos da Embrapa Milho e Sorgo, foi isolada de um fragmento de raiz colonizada coletada na Floresta Amazônica e registrada no SISGEN sob o No. AEDFA70.

Cultivo monoxênico in vitro da estirpe *Rhizoglyphus* sp2 CNPMS11

A cultura do fungo foi obtida a partir de um fragmento de raiz colonizada contendo esporos intrarradiculares diretamente de uma amostra de solo. O fragmento de raiz foi inoculado em radículas de uma plântula de braquiária (*Urochloa brizantha* CV Marandu) pré-germinada. Após quatro meses de cultivo em solo autoclavado, os esporos obtidos foram extraídos, desinfestados e estabelecidos em cultivo monoxênico com raízes Ri T-DNA de cenoura, conforme descrito por (Souza; Berbara, 1999; Souza; Declerck 2003). As culturas foram estabelecidas com o clone C264 e C87 de cenoura CV BRS Planalto (Carneiro et al., 2019), sendo cultivadas em meio mínimo, conforme Souza e Berbara, 1999. A produção de esporos em função da linhagem clonal de raízes foi avaliada em meio de cultura solidificado com PhytigelTM.

Eficiência simbiótica em plantas de jacarandá-da-Bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.) Allemão ex. Benth) e milho (*Zea mays* L.)

Para o jacarandá foram testados quatro tratamentos de inoculação: 1. Controle não inoculado; 2. *Rhizoglossus clarum* CNPMS05; 3. *Rhizoglossus* sp2 CNPMS11; 4. MIX (Inóculo obtido a partir da combinação das estirpes *Rhizoglossus* sp2 CNPMS11, *Acaulospora* sp1 CNPMS17, *Gigaspora margarita* CNPMS01, *Fuscutata rubra* CNPMS08 e *Ambispora apendicula* CNPMS13). Os tratamentos de inoculação foram combinados com dois níveis de fósforo aplicados ao solo: 30 mg kg⁻¹ e 100 mg kg⁻¹ de P na forma de KH₂PO₄. Variáveis relacionadas ao crescimento das mudas foram mensuradas aos 60, 90 e 120 dias de cultivo.

Para o milho, utilizaram-se os híbridos BRS1010 e DKB390 VT PRO, submetidos a oito tratamentos de inoculação: 1. Controle não inoculado; 2. *Racocetra crispa* CNPMS10; 3. *Rhizoglossus* sp2. CNPMS11; 4. *Glomus heterosporum* CNPMS06; 5. *Fuscutata rubra* CNPMS08; 6. *Claroideoglossus etunicatum* CNPMS09; 7. *Rhizoglossus clarum* CNPMS05; 8. *On farm*. O inóculo *on farm* foi obtido pela multiplicação da mistura das estirpes individualizadas em substrato desinfestado por solarização (Souza et al., 2017). O nível de fósforo aplicado ao solo foi de 30 mg kg⁻¹ de P na forma de KH₂PO₄.

Aqui são apresentados dados da produção de biomassa total (parte aérea e raízes) obtida 45 dias após a germinação, apresentados como Eficiência Simbiótica (ES), expressa pela fórmula $ES = (Biomassa\ seca\ da\ planta\ inoculada - Biomassa\ seca\ de\ planta\ controle) / Biomassa\ seca\ planta\ controle \times 100$. Os experimentos foram conduzidos em condições de casa de vegetação. São apresentados dados consolidados em relação aos controles não inoculados, focando na performance da estirpe *Rhizoglossus* sp2 CNPMS11. Dados completos podem ser encontrados em Macena (2020) e Gomes-Júnior (2018).

Resultados e Discussão

Jacarandá-da-Bahia

Todos os tratamentos de inoculação com fungos micorrízicos foram superiores ao tratamento controle (não inoculado), contribuindo para melhor desenvolvimento das mudas de jacarandá (Tabela 1). Esses resultados evidenciam a dependência micorrízica do jacarandá-da-Bahia, que mesmo na dose de 100 mg de P.kg⁻¹ apresentou desenvolvimento limitado quando comparado aos tratamentos inoculados (Tabelas 1 e 2). O MIX de estirpes apresentou a melhor performance para acúmulo de biomassa com a dose de 30 mg.Kg⁻¹, sendo similar ou superior à de 100 mg.Kg⁻¹ de P aplicado (Tabela 2).

Tabela 1. Diâmetro e altura de mudas de *Dalbergia nigra* em resposta à inoculação MIX de estirpes de fungos micorrízicos arbusculares e estirpes de *Rhizoglosum*.

Tratamentos	Diâmetro		
	60 dias	90 dias	120 dias
MIX ¹	1,964 a	2,216 a	2,664 a
<i>Rhizoglosum</i> sp2	1,912 a	2,189 a	2,386 a
<i>Rhizoglosum clarum</i>	1,748 b	1,900 b	2,051 b
Controle não inoculado	1,739 b	1,828 b	1,993 b
Altura			
MIX	12,50 a	15,35 a	19,35 a
<i>Rhizoglosum</i> sp2	12,25 a	14,15 a	18,10 a
<i>Rhizoglosum clarum</i>	12,10 a	13,95 a	16,85 a
Controle não inoculado	7,70 b	8,40 b	9,95 b

¹MIX - Inóculo misto obtido a partir da combinação de solo inóculo das estirpes: *Rhizoglosum* sp2 CNPMS11, *Acaulospora* sp1 CNPMS17, *Gigaspora margarita* CNPMS01, *Ambispora appendicula* CNPMS13.

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Matéria Seca Raízes (MSR), Matéria Seca Total (MST) e Matéria Seca Parte Aérea (MSPA) de mudas de *Dalbergia nigra* em reposta à inoculação MIX de estirpes de fungos micorrízicos arbusculares e estirpes de *Rhizoglo­mus*.

Tratamentos	MSR		MST		MSPA	
	30	100	30	100	30	100
	mg.kg ⁻¹					
MIX ¹	0.399 aA	0.391 aA	1.116aA	0.947aA	0.708 aA	0.564 aB
<i>R. clarum</i>	0.307 aA	0.301 aA	0.621aB	0.981aA	0.418 aB	0.598 aA
<i>Rhizoglo­mus</i> sp2	0.284 aB	0.313 aA	0.671aB	0.916aA	0.412 aB	0.538 aA
Controle não inoculado	0.094 bB	0.271 bA	0.262bB	0.659bA	0.168 bB	0.388 bA

¹MIX - Inóculo misto obtido a partir da combinação de solo inóculo das estirpes: *Rhizoglo­mus* sp2 CNPMS11, *Acaulospora* sp1 CNPMS17, *Gigaspora margarita* CNPMS01, *Ambispora appendicula* CNPMS13.

Médias seguidas de letras iguais (maiúsculas ou minúsculas) não diferem entre si, pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam os tratamentos de inoculação, e as letras maiúsculas, os níveis de fertilização com P dentro de um mesmo tratamento de inoculação.

A performance da estirpe *Rhizoglo­mus* sp2 CNPMS11 foi estatisticamente similar ao tratamento com MIX de estirpes e também com *R.clarum* CNPMS05. *R. clarum* é uma estirpe efetiva para diversas culturas, porém a taxa de esporulação é baixa quando comparada com a estirpe *Rhizoglo­mus* sp2 CNPMS11 (dados não apresentados). *R. clarum* é uma das espécies mais utilizadas em inoculantes comerciais (Basiru et al., 2021).

Milho

A resposta da inoculação dos fungos MA para os dois híbridos de milho (Figura 1) indicaram que a performance da estirpe *Rhizoglo­mus* sp2 CNPMS11 foi superior à das demais, independentemente da genética do milho. O híbrido BRS1010 foi mais responsivo à inoculação para todos os tratamentos, exceto *Racocetra crispa*, que foi mais eficiente para o DKB390 (Figura 1). A inoculação do DKB390 com as estirpes *Glomus heterosporum* CNPMS06, *Fuscutata rubra* CNPMS08 e *Rhizoglo­mus clarum* CNPMS05 causou redução do desenvolvimento deste híbrido em relação ao controle não inoculado (Figura 1). O inóculo *on farm* apresentou resposta baixa quando comparado com inoculantes monoespecíficos. O inóculo *on farm* continha em sua composição as mesmas estirpes avaliadas individualmente, porém, o

número de propágulos por grama de inóculo é mais baixo por espécie do que nos inoculantes monoespecíficos (dados não apresentados).

Produção de esporos de *Rhizoglomus* sp2. CNPMS11 em cultivo monoxênico

A produção de esporos de *Rhizoglomus* sp2. CNPMS11 em raízes Ri T-DNA de clones C264 e C87 de cenoura variou, respectivamente, na faixa de 9.990 a 70.445 e 1.455 a 26.046 esporos por placa com 40 mL de meio de cultura (Figura 2). O número total de propágulos infectivos (unidades capazes de iniciar uma nova infecção - esporos, raízes colonizadas e micélio) pode ser similar ao número de esporos ou até 6 vezes superior, dependendo da formação de vesículas e hifas infectivas (Tiwari; Adholeya, 2003). A linhagem C264 produziu em média 2,9% mais esporos do que a C87. Nossos resultados

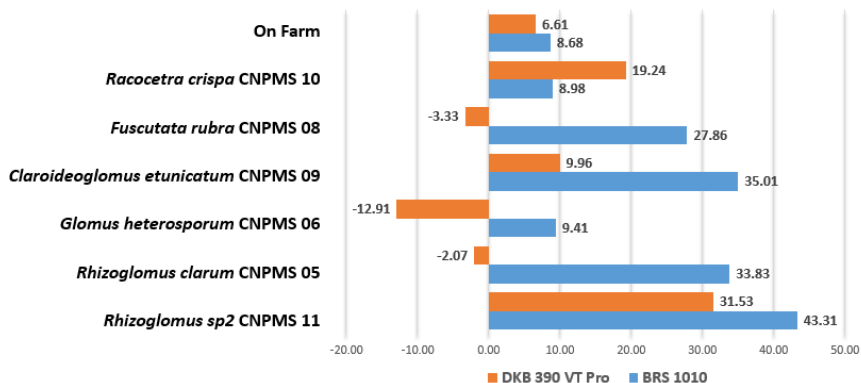


Figura 1. Eficiência Simbiótica (%) de Fungos Micorrízicos Arbusculares para os híbridos de Milho DKB390 VTPro e BRS 1010 na dose de 30 mg.kg⁻¹ de P aplicado. Eficiência simbiótica= (Matéria seca planta inoculada – Matéria seca planta controle/ Matéria seca planta controle) x 100.

demonstram o elevado potencial de produção de propágulos por esta estirpe em sistema monoxênico associado a linhagens de raízes clonais de cenoura selecionadas.

Os fungos MA apresentam ausência de especificidade hospedeira (Smith; Read, 2008), em teoria, qualquer espécie de fungo MA seria capaz de colonizar qualquer planta micotrófica arbuscular. Na prática, verifica-se que a formação da simbiose e a magnitude da resposta à inoculação dependem da adaptação do fungo às condições edafoclimáticas locais e da receptividade da planta simbiote e esta sofre influência da sua genética e de seu estado nutricional (Berruti et al., 2016). As maiores respostas positivas à inoculação são observadas em situações onde as plantas estão demandando mais nutrientes do que seu sistema radicular é capaz de conseguir sozinho. E é dependente do suprimento do solo e da taxa de crescimento da planta. Assim, mesmo em culturas crescendo em solos agrícolas ricos em nutrientes

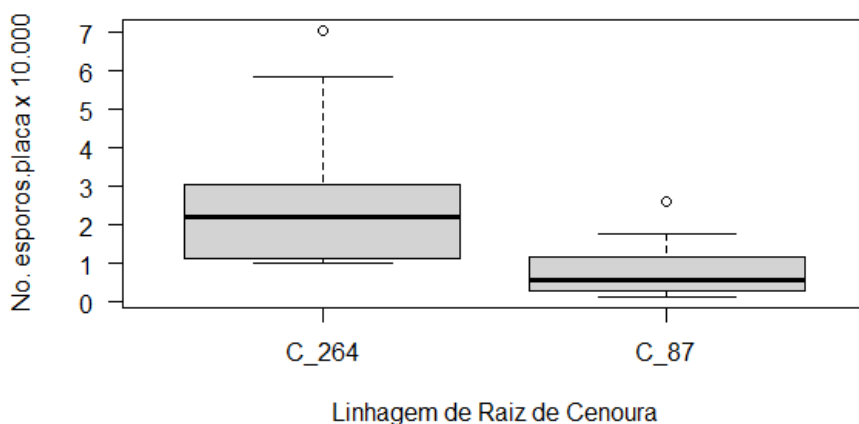


Figura 2. Produção de esporos do fungo *Rhizoglyphus* sp2. CNPMS11 em raízes Ri T-DNA de dois clones de cenoura.

a formação da simbiose micorrízica arbuscular ocorre naturalmente (Baltruschat et al., 2019). Esses autores reportaram uma alta diversidade de fungos MA em chernossolos, que são solos com altíssima fertilidade natural e altamente produtivos, utilizados para produção agrícola na Europa central.

Para o milho, verificou-se que o genótipo BRS1010 foi mais responsivo à inoculação quando comparado ao DKB390 para todas as estirpes avaliadas (Figura 1), com destaque para a estirpe *Rhizoglosum* sp2. CNPMS11, que apresentou o melhor desempenho para os dois híbridos.

O desenvolvimento do jacarandá-da-Bahia foi limitado, apesar de responder positivamente ao aumento da disponibilidade de P, sem a inoculação (Tabela 1). Esses resultados indicam a necessidade da inoculação do jacarandá na fase de produção de mudas. Atualmente, a maioria dos viveiros florestais tem produzido mudas em substratos comerciais. Esses substratos são livres de propágulos de fungos MA, requerendo, nesta condição, maior aporte de nutrientes para atingir desenvolvimento adequado. A disponibilização de bioinsumos contendo fungos MA eficientes para a produção florestal resultará em ganhos econômicos e ambientais já na fase de produção de mudas.

Dados obtidos de experimentos conduzidos em campo estão demonstrando que a compatibilidade entre características do solo/locais e da estirpe é a determinante do sucesso da inoculação de fungos MA (Herrera-Peraza et al., 2011; Kokkoris et al., 2019). Assim, a ampliação da oferta de estirpes com potencial para produção de inoculantes comerciais é fundamental para o desenvolvimento de bioinsumos capazes de promover o crescimento de plantas em uma ampla variedade de culturas, sistemas de produção e condições edafoclimáticas.

A inoculação de comunidades de plantas com uma maior diversidade interespecífica de fungos MA, em geral, apresenta melhor performance, explicada por maior complementariedade funcional, adaptação e menor competição entre as espécies inoculadas (Maherali; Klironomos, 2007). No caso do milho, a inoculação somente com *Rhizoglosum* sp2 CNPMS11 foi superior ao inóculo contendo múltiplas espécies. Já para o jacarandá-da-Bahia a melhor performance foi do inoculante contendo múltiplas espécies. No entanto, a produção comercial de inoculantes mistos pode ser mais onerosa e requerer ampliação da infraestrutura necessária para produzir as

estirpes individualmente. Por outro lado, o cultivo simultâneo de *Gigaspora margarita* e *R. intraradices* (Tiwari; Adholeya, 2002) e *Dentiscutata reticulata* e *R. intraradices* (Souza et al., 2005) já foi demonstrado em cultivo monoxênico com raízes de cenoura, indicando uma possível vantagem deste sistema para a produção de inoculantes mistos em condições assépticas.

A produção de inóculo em sistema monoxênico é o principal processo para produção comercial de inoculantes contendo fungos MA em ambiente asséptico (Ijdo et al., 2011; Sharma et al., 2017). Neste sistema, o fungo MA, que é biotrófico obrigatório, cresce em simbiose com uma cultura de raiz *in vitro* em um meio de cultura sintético, sendo capaz de se desenvolver, acumular biomassa e formar novos propágulos (Bécard; Fortin, 1988).

O desenvolvimento e a seleção de linhagens clonais de raízes Ri T-DNA são partes fundamentais para o sucesso do processo de produção massal de inóculo de fungos MA em sistema monoxênico. A formação de raízes Ri T-DNA por *Rhizobium rhizogenes* ocorre pela transferência e integração de genes do plasmídeo Ri no genoma da planta (Carneiro et al., 2019). Neste processo, cada linhagem de raiz obtida é única e apresenta diferenças genéticas e fisiológicas que podem causar modificações na expressão gênica, na morfologia, no fenótipo e consequentemente na dinâmica de crescimento radicular (Srivastava; Srivastava, 2007; Doran, 2013), e afetar a simbiose micorrízica arbuscular (Tiwari; Adholeya, 2003).

Considerações Finais e Perspectivas

Existem cerca de 350 espécies de fungos MA descritas (Wijayawardene et al., 2020), no entanto, a formulação de inoculantes comerciais está baseada em poucas estirpes pertencentes a um número limitado de espécies (Basiru et al., 2021). A disponibilização de novas estirpes de fungos MA selecionadas para a promoção do crescimento vegetal e com potencial para produção de inóculo em condições assépticas é fundamental para ampliar a oferta de bioinsumos eficientes para uma ampla gama de sistemas de produção, culturas e condições edafológicas.

A estirpe *Rhizoglossus* sp2. CNPMS11 apresentou eficiência para promoção do crescimento inicial do milho e do jacarandá-da-Bahia, em condições

controladas, sendo uma gramínea e a outra uma leguminosa arbórea, duas espécies de plantas com hábitos de crescimento distintos.

O cultivo monoxênico da estirpe *Rhizoglyphus* sp2. CNPMS11 em raízes Ri T-DNA de cenoura demonstra o potencial para cultivo deste fungo em sistema monoxênico asséptico. Este sistema é passível de “scale up” para produção massal de inoculante.

A produtividade de esporos obtida no cultivo monoxênico desta estirpe foi maior quando associada à linhagem clonal de raízes de cenoura C264 em relação a C87. Outras linhagens de raízes Ri T-DNA vêm sendo desenvolvidas e testadas (Carneiro et al., 2019), porém as duas utilizadas no presente trabalho são as mais eficientes até o momento.

O “scale up” do sistema de produção de inóculo da estirpe *Rhizoglyphus* sp2. CNPMS11 permitirá a produção massal para a condução de experimentos em campo visando avaliar a performance da estirpe em diferentes sistemas de produção.

Referências

BALTRUSCHAT, H.; SANTOS, V. M.; SILVA, D. K. A. da; SCHELLENBERG, I.; DEUBEL, A.; SIEVERDING, E.; OEHL, F. Unexpectedly high diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in fertile Chernozem croplands in Central Europe. **Catena**, v. 182, 104135, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.catena.2019.104135>.

BARAZETTI, A. R.; SIMIONATO, A. S.; NAVARRO, M. O. P.; SANTOS, I. M. O. dos; MODOLON, F.; ANDREATA, M. F. de L.; LIUTI, G.; CELY, M. V. T.; CHRYSSAFIDIS, A. L.; DEALLIS, M. L.; ANDRADE, G. Formulations of arbuscular mycorrhizal fungi inoculum applied to soybean and corn plants under controlled and field conditions. **Applied Soil Ecology**, v. 142, p. 25-33, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.05.015>.

BASIRU, S.; MWANZA, H. P.; HIJRI, M. Analysis of arbuscular mycorrhizal fungal inoculant benchmarks. **Microorganisms**, v. 9, n. 1, 81, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010081>.

BÉCARD, G.; FORTIN, J. A. Early events of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation on Ri T-DNA transformed roots. **New Phytologist**, v. 108, p. 211-218, 1988. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1988.tb03698.x>.

BERRUTI, A.; LUMINI, E.; BALESTRINI, R.; BIANCIOTTO, V. Arbuscular mycorrhizal fungi as natural biofertilizers: let's benefit from past successes. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, 1559, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01559>.

CARNEIRO, A. A.; MOREIRA, G. A. dos S.; MEDEIROS, K. M. R.; OLIVEIRA, R. P. de; FERREIRA, C. F.; de SOUZA, F. A. de. **Indução de culturas de raízes por diferentes linhagens de *Agrobacterium rhizogenes* em plântulas de *Cichorium intybus*, *Daucus carota*, *Macroptilium atropurpureum* e *Plantago* sp.** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2019. 26 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 197).

CELY, M. V. T.; OLIVEIRA, A. G. de; FREITAS, V. F. de; LUCA, M. B. de; BARAZETTI, A. R.; SANTOS, I. M. O. dos; GIONCO, B.; GARCIA, G. V.; PRETE, C. E. C.; ANDRADE, G. Inoculant of arbuscular mycorrhizal fungi (*Rhizophagus clarus*) increase yield of soybean and cotton under field conditions. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, article 720, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00720>.

DORAN, P. M. (ed.). **Biotechnology of hairy root systems**. Berlin: Springer, 2013.

FORTIN, J. A.; BÉCARD, G.; DECLERCK, S.; DALPÉ, Y.; ST-ARNAUD, M.; COUGHLAN, A. P.; PICHÉ, Y. Arbuscular mycorrhiza on root-organ cultures. **Canadian Journal of Botany**, v. 80, p. 1-20, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1139/b01-139>.

HERRERA-PERAZA, R. A.; HAMEL, C.; FERNÁNDEZ, F.; FERRER, R. L.; FURRAZOLA, E. Soil-strain compatibility: the key to effective use of arbuscular mycorrhizal inoculants? **Mycorrhiza**, v. 21, n. 3, p. 183-193, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00572-010-0322-6>.

GOMES-JÚNIOR, C. C. **Alterações morfológicas em dois genótipos de milho (*Zea Mays* L.) em resposta a inoculação com fungos micorrízicos arbusculares**. 2018. 45 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2018.

IJDO, M.; CRANENBROUCK, S.; DECLERCK, S. Methods for large-scale production of AM fungi: past, present, and future. **Mycorrhiza**, v. 21, p. 1-16, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00572-010-0337-z>.

MACENA, L. H. S. **Seleção de estirpes de estirpes e determinação de dependência micorrízica para Jacarandá-da-Bahia (*Dalbergia nigra-Allemao ex: Benth*)**. 2020. 57 p. Monografia (Graduação em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de São João del-Rei, Sete Lagoas, 2020.

KOKKORIS, V.; LI, Y.; HAMEL, C.; HANSON, K.; HART, M. Site specificity in establishment of a commercial arbuscular mycorrhizal fungal inoculant. **Science of the Total Environment**, v. 660, p. 1135-1143, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.100>.

MAHERALI, H.; KLIRONOMOS, J. N. Influence of phylogeny on fungal community assembly and ecosystem functioning. **Science**, v. 80, n. 316, p. 1746-1748, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1143082>.

SHARMA, S.; SHARMA, S.; AGGARWAL, A.; SHARMA, V.; SINGH, M. J.; KAUSHIK, S. Mass multiplication of arbuscular mycorrhizal fungi. In: AGGARWAL, A.; YADAV, K. (ed.). **Mycorrhizal fungi**. New Delhi: Astral Publications, 2017. p. 157-174.

SMITH, S. E.; READ, D. **Mycorrhizal symbiosis**. London: Academic Press, 2008. 800 p.

SOUZA, F. A. de.; BERBARA, R. L. L. Ontogeny of *Glomus clarum* in Ri T-DNA transformed roots. **Mycologia**, v. 91, p. 343-350, 1999. DOI: <https://doi.org/10.2307/3761379>.

SOUZA, F. A. de.; DALPÉ, Y.; DECLERCK, S. Life history strategies in Gigasporaceae: insight from monoxenic culture. In: DECLERCK, S.; STRULLU, D.-G.; FORTIN, J. A. (ed.). **In vitro culture of mycorrhizas**. Berlin: Springer, 2005. p. 73-91.

SOUZA, F. A. de; DECLERCK, S. Mycelium development and architecture, and spore production of *Scutellospora reticulata* in monoxenic culture with Ri T-DNA transformed carrot roots. **Mycologia**, v. 95, p. 1004-1012, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1080/15572536.2004.11833016>.

SOUZA, F. A. de.; SCHLEMPER, T. R.; STÜRMER, S. L. A importância da tecnologia de inoculação de fungos micorrízicos para a sustentabilidade na olericultura. In: LOPES, C. A.; PEDROSO, M. T. M. (ed.). **Sustentabilidade e horticultura no Brasil: da retórica à prática**. Brasília, DF: Embrapa, 2017. p. 223-251.

SRIVASTAVA, S.; SRIVASTAVA, A. K. Hairy root culture for mass-production of high-value secondary metabolites. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 27, n. 1, p. 29-43, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1080/07388550601173918>.

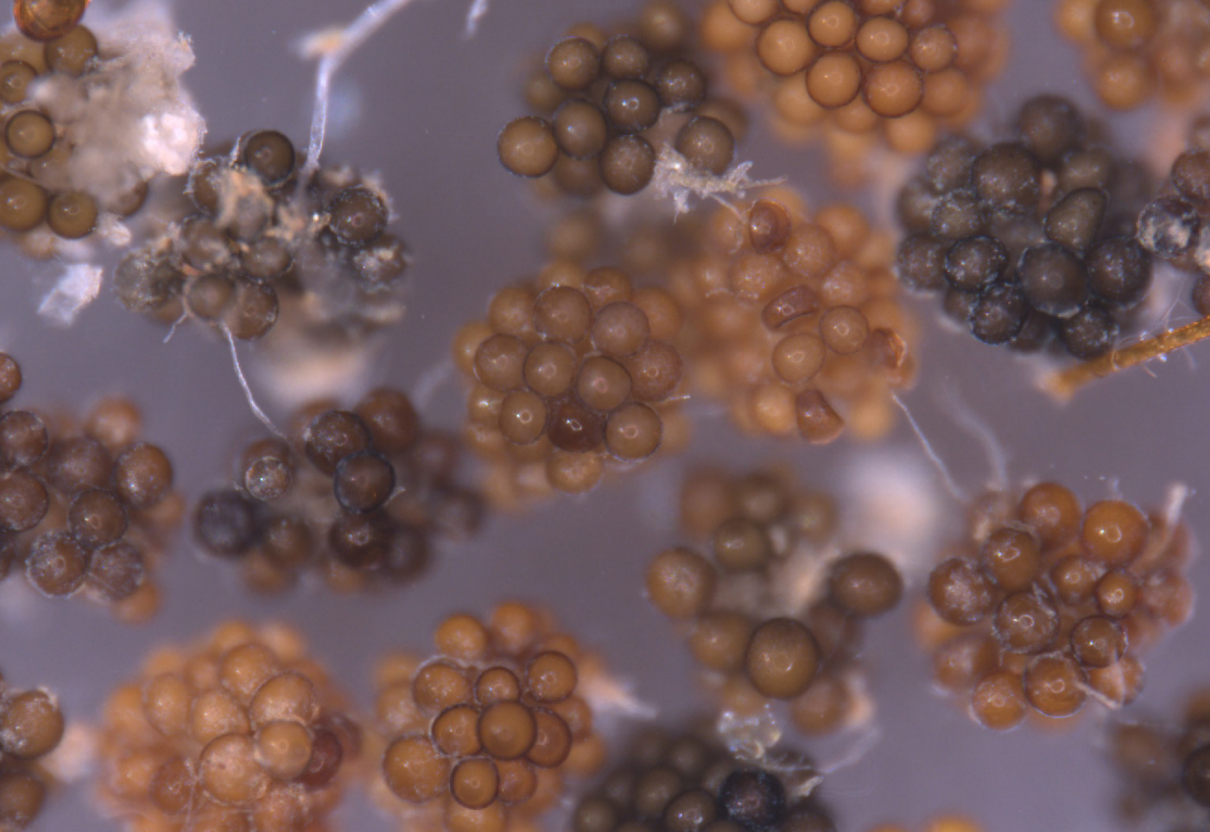
STOFFEL, S. C. G.; SOARES, C. R. F. S.; MEYER, E.; LOVATO, P. E.; GIANCHINI, A. J. Yield increase of corn inoculated with a commercial arbuscular mycorrhizal inoculant in Brazil. **Ciência Rural**, v. 50, n. 7, e20200109, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200109>.

TAHIR, A. D.; ABDOULAYE, T.; TAHIR, A. D. In vitro culture of arbuscular mycorrhizal fungi: advances and future prospects. **African Journal of Biotechnology**, v. 2, n. 12, p. 887-896, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.5897/AJB2003.000-1128>.

TIWARI, P.; ADHOLEYA, A. Host dependent differential spread of *Glomus* intraradices on various Ri T-DNA transformed roots in vitro. **Mycological Progress**, v. 2, p. 171-177, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11557-006-0055-2>.

TIWARI, P.; ADHOLEYA, A. In vitro co-culture of two AMF isolates *Gigaspora margarita* and *Glomus* intraradices on Ri T-DNA transformed roots. **FEMS Microbiology Letters**, v. 206, n. 1, p. 39-43, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2002.tb10983.x>.

WIJAYAWARDENE, N.; HYDE, K.; AL-ANI, L.; TEDERSOO, L.; HAELEWATERS, D.; RAJESHKUMAR, K. C.; ZHAO, R. L.; APTROOT, A.; LEONTYEV, D. V.; SAXENA, R. K. Outline of fungi and fungus-like taxa. **Mycosphere**, v. 11, n. 1, p. 1060-1456, 2020. DOI: <https://doi.org/10.5943/mycosphere/11/1/8>.



Esta publicação está disponível no
endereço:
[https://www.embrapa.br/milho-e-sorgo/
publicações](https://www.embrapa.br/milho-e-sorgo/publicacoes)

Embrapa Milho e Sorgo
Rod. MG 424 Km 45
Caixa Postal 151
CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG
Fone: (31) 3027-1100
Fax: (31) 3027-1188
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

1ª edição
Publicação digital (2021)

Embrapa

MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



Comitê Local de Publicações
da Unidade Responsável

Presidente
Maria Marta Pastina

Secretário-Executivo
Elena Charlotte Landau

Membros
Cláudia Teixeira Guimarães, Mônica Matoso
Campanha, Roberto dos Santos Trindade e
Maria Cristina Dias Paes

Revisão de texto
Antonio Claudio da Silva Barros

Normalização bibliográfica
Rosângela Lacerda de Castro (CRB 6/2749)

Tratamento das ilustrações
Mônica Aparecida de Castro

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Mônica Aparecida de Castro

Fotos da capa
Francisco Adriano de Souza

CGPE 017030