

ROBERTA NETO DUARTE

**DESENVOLVIMENTO DE BIOFERTILIZANTE COM BIOCHAR E
ENRIQUECIDO COM FUNGOS MICORRÍZICOS**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Produção Vegetal pelo Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade do Estado de Santa Catarina- UDESC.

Orientador: Prof^o. Dr. Pedro Boff

Coorientadora: Prof^a. Dra. Mari Inês Carissimi Boff

LAGES

2025

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da
Biblioteca Universitária Udesc,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Duarte, Roberta Neto
DESENVOLVIMENTO DE BIOFERTILIZANTE COM
BIOCHAR E ENRIQUECIDO COM FUNGOS MICORRÍZICOS /
Roberta Neto Duarte. -- 2025.
70 p.

Orientador: Pedro Boff
Coorientadora: Mari Ines Carissimi Boff
Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de
Pós-Graduação em Produção Vegetal, Lages, 2025.

1. Acaulopora colombiana. 2. Rhizophagus clarus. 3.
Bioinsumos. 4. Método On-farm. I. Boff, Pedro. II. Carissimi Boff,
Mari Ines. III. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de
Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em
Produção Vegetal. IV. Título.



ATA DE BANCA DE AVALIAÇÃO DE MESTRADO

Aos vinte dias de fevereiro de dois mil e vinte e cinco, às 14h00min, reuniu-se nas dependências do Centro de Ciências Agroveterinárias a Banca de Avaliação da Dissertação de Mestrado em Produção Vegetal da mestrand **Roberta Neto Duarte**, intitulada **"Desenvolvimento de biofertilizante com biochar e enriquecido com fungos micorrízicos"**, sendo a banca composta pelo professor Pedro Boff na qualidade de Presidente, e pelos professores Dr. Silmar Primieri, Dr. Murilo Dalla Costa e Dr. João Frederico Mangrich dos Passos na qualidade de membros. Sendo membros suplentes o professor Dr. Antonio Mendes de Oliveira Neto e o Dr. Sergio Domingues. Após defesa pública da referida dissertação pela mestrand perante a Banca e o público presente, a Banca de Avaliação atribuiu a mesma o seguinte conceito:

Membro da Banca	Assinatura
Dr. Pedro Boff – UDESC/Lages-SC (presidente)	
Dr. Silmar Primieri – IFSC/Lages (membro externo)	
Dr. Murilo Dalla Costa – EPAGRI/Lages (membro externo)	
Dr. João Frederico Mangrich dos Passos – EPAGRI/Lages (membro externo)	

Avaliação Final - Parecer da Banca:

☒ Aprovado

☐ Aprovado Mediante Reconsideração da Banca, apresentar em __/__/__ (prazo máximo de 60 dias)

☐ Reprovado

Observações: É solicitado atender integralmente os ajustes
solicitados pela banca.

Lages, 20 de fevereiro de 2025.

Visto do Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal

Despacho para Secretaria em:

Prof^o Antonio Mendes de Oliveira Neto
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Produção Vegetal
CAV/UDESC - Lages (SC)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a minha família, minha mãe Melissa, meus avós D. Maria e Sr. Valdevino (in memorian) por tudo, pois hoje sou o que sou por tê-los ao meu lado. Aos amigos que encontrei durante essa jornada, aqueles que me incentivaram a continuar e, muitas vezes, acreditaram em possibilidades que eu jamais imaginaria. E que continuam a me incentivar toda vez que os encontro.

Serei eternamente grata ao Professor Pedro Boff que gentilmente me orientou durante mais este trecho do meu caminho e ao Professor Silmar que esteve junto comigo durante todo o processo (sinto muito por todos os transtornos causados). E a Professora Dr. Mari Carissimi Boff por todo o apoio.

Também gostaria de dedicar um agradecimento especial ao Sr. Pesquisador Murilo Dalla Costa, sem seu apoio, talvez, esta dissertação não passasse de um projeto.

Agradeço, também, ao grupo do Laboratório de Homeopatia da EPAGRI, por todo apoio, companheirismo e paciência nestes dois anos. Alegro-me ter conhecido moças e rapaz, tão gentis, dedicadas e estudiosas como vocês: Doutorandos Thais Dal Bello, Egabrieli Garbin e Charlotte Southall, Juliano Muniz e a Mestranda Mariana Fiedler. Ao laboratorista Cesar pela animação de todos os dias.

Agradeço ao Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV) em especial ao Programa de Pós-Graduação. Bem como, às demais instituições parceiras: Instituto Federal de Santa Catarina (IFSC) e Empresa de Pesquisa e Extensão Agropecuária (EPAGRI), pelo conhecimento, matérias e espaço cedidos. E a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida

Enfim, sou imensamente e eternamente grata por ter encontrado tantas pessoas maravilhosas neste mundo, jamais poderei esquecê-los, apenas espero um dia estar a altura de suas expectativas e desejo que sejam felizes.

"All we have to decide is what to
do with the time that is given us."

(J. R. R. Tolkien)

RESUMO

O desenvolvimento de biofertilizantes utilizando fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e resíduos industriais, como o biocarvão proveniente de termelétricas, surge como uma alternativa promissora para uma agricultura sustentável. Os FMAs formam associações simbióticas mutualísticas com raízes de plantas, promovendo absorção de nutrientes, principalmente fósforo, e maior tolerância a estresses abióticos. Apesar de suas vantagens, a multiplicação comercial de FMAs enfrenta desafios devido a sua natureza biotrófica e a falta de produtos comerciais no mercado nacional, o que torna o método *On-farm* uma alternativa viável, permitindo a produção direta nas propriedades agrícolas. O biocarvão, por sua vez, destaca-se como componente potencial de biofertilizantes, pois apresenta alta concentração de nutrientes e melhora as características físico-químicas do solo. Contudo, estudos indicam que sua aplicação exige dosagens controladas, pois concentrações elevadas podem inibir a colonização de FMAs devido ao excesso de fósforo. Este estudo investigou a combinação desses elementos em dois experimentos: um a campo e outro em casa de vegetação, utilizando diferentes doses de biocarvão (0, 10 e 20%) e inoculação com FMAs (*Acaulospora colombiana* e *Rhizophagus clarus*) em sorgo. Os resultados indicaram que, em condições de campo, a utilização de 10 e 20% de biocarvão associadas à inoculação promoveram maior colonização radicular, contrariando a literatura precedente. No experimento em casa de vegetação, os tratamentos com 10% e 20% de biocarvão e inoculação de FMAs apresentaram os melhores resultados em colonização e produção de esporos comparados às testemunhas. Além disso, foi realizada uma meta-análise de estudos envolvendo FMAs multiplicados pelo método *On-farm*, evidenciando benefícios significativos em diversos cultivos. Os principais ganhos incluíram aumento de biomassa, na taxa de colonização radicular e produção de esporos. Conclui-se que a combinação de FMAs e biocarvão é uma estratégia eficaz para desenvolver biofertilizantes sustentáveis, desde que as doses sejam cuidadosamente ajustadas para evitar impactos negativos a simbiose. O método *On-farm* potencializa essa abordagem, viabilizando a produção local de bioinsumos agrícolas e promovendo uma agricultura mais autossuficiente e ambientalmente responsável.

Palavras-chave: *Acaulospora colombiana*; *Rhizophagus clarus*; Bioinsumos; Método *On-farm*.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF BIOFERTILIZER WITH BIOCHAR ENRICHED WITH MYCORRHIZAL FUNGI

The development of biofertilizers using arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and industrial residues, such as biochar from thermoelectric plants, emerges as a promising alternative for sustainable agriculture. AMF form mutualistic symbiotic associations with plant roots, promoting nutrient absorption, mainly phosphorus, and greater tolerance to abiotic stresses. Despite their advantages, the commercial multiplication of AMF faces challenges due to their biotrophic nature and the lack of commercial products on the national market, which makes the on-farm method a viable alternative, allowing direct production on agricultural properties. Biochar, in turn, stands out as a potential component of biofertilizers, as it presents a high concentration of nutrients and improves the physical-chemical characteristics of the soil. However, studies indicate that its application requires controlled dosages, as high concentrations may inhibit the colonization of AMF due to the excess of phosphorus. This study investigated the combination of these elements in two experiments: one in the field and another in a greenhouse, using different doses of biochar (0, 10, and 20%) and inoculation with AMF (*Acaulospora colombiana* and *Rhizophagus clarus*) in sorghum. The results indicated that, under field conditions, the use of 10% and 20% biochar associated with inoculation promoted greater root colonization, contradicting previous literature. In the greenhouse experiment, the treatments with 10% and 20% biochar and AMF inoculation presented the best results in colonization and spore production compared to the controls. In addition, a meta-analysis of studies involving AMF multiplied by the on-farm method was carried out, showing significant benefits in various crops. The main gains included an increase in biomass, in the root colonization rate, and spore production. It is concluded that the combination of AMF and biochar is an effective strategy to develop sustainable biofertilizers, as long as the doses are carefully adjusted to avoid negative impacts on the symbiosis. The on-farm method enhances this approach, making possible the local production of agricultural bioinputs and promoting a more self-sufficient and environmentally responsible agriculture.

Keywords: *Acaulospora colombiana*; *Rhizophagus clarus*; Bio-inputs; On-farm Method.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Preferred Reporting Items for Meta-analyses (PRISMA).....	25
Figura 2: Fórmula utilizada pra o cálculo do lnRR.....	29
Figura 3: Fórmula utilizada para o cálculo da variância.....	29
Figura 4: Figura 4: Dados de colonização radicular coletados em artigos científicos plotados em funil para avaliar o potencial de publicação de meta-análise.....	30
Figura 5: Dados de biomassa coletados em artigos científicos plotados em funil para avaliar o potencial de publicação de meta-análise.....	31
Figura 6: : Dados de absorção de fósforo coletados em artigos científicos plotados em funil para avaliar o potencial de publicação de meta-análise.....	32
Figura 7: Tamanho do efeito da utilização de FMAs no incremento de biomassa, colonização radicular e absorção de fósforo provenientes de meta-análise da literatura.....	33
Figura 8: Efeito da aplicação de FMAs multiplicados <i>On-farm</i> sobre a biomassa de diferentes grupos funcionais de plantas provenientes de meta-análise da literatura.....	35
Figura 9: Efeito da aplicação de FMAs multiplicados <i>On-farm</i> sobre a taxa de colonização radicular em diferentes grupos funcionais de plantas provenientes de meta-análise da literatura.....	36
Figura 10: Efeito da aplicação de FMAs multiplicados <i>On-farm</i> sobre a absorção de P em diferentes grupos funcionais de plantas provenientes de meta-análise da literatura.....	37
Figura 11: Disposição de sulcos no vaso de plantio de de <i>Sorghum bicolor</i>	49
Figura 12: Disposição do experimento sobre superfície impermeável.....	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Substratos e espécies de FMA utilizados nas publicações científicas revisadas na meta-análise	26
Tabela 2: Taxa de colonização radicular, produção de esporos e biomassa obtidos em ensaio preliminar para definição das doses de biocarvão a serem utilizadas em conjunto com a inoculação de FMAs na composição de um biofertilizante.....	46
Tabela 3: Caracterização físico-química do solo.....	47
Tabela 4: Caracterização química do biocarvão.....	47
Tabela 5: Caracterização química dos tratamentos de misturas de solo e biocarvão utilizadas nos experimentos a campo e em casa de vegetações.....	52
Tabela 6: Colonização micorrízica de aveia-branca inoculada com FMAs <i>Acaulospora colombiana</i> cultivada a campo em mistura composta por solo e biocarvão nas concentrações de 0, 10 e 20%.	54
Tabela 7: Colonização micorrízica de aveia-branca inoculada com FMAs <i>Rhizophagus clarus</i> cultivada em casa de vegetação em mistura composta por solo e biocarvão nas concentrações de 0, 10 e 20%.....	55
Tabela 8: Número de esporos em 50 g de substrato contendo FMAs <i>Acaulospora colombiana</i> cultivada em vasos a campo em mistura composta por solo e biocarvão nas concentrações de 0, 10 e 20%.....	57
Tabela 9:: Número de esporos em 50 g de substrato contendo FMAs <i>Rhizophagus clarus</i> cultivada em casa de vegetação em mistura composta por solo e biocarvão nas concentrações de 0, 10 e 20%.....	57

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	12
2.EFEITO DA INOCULAÇÃO DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES (FMA) MULTIPLICADOS PELO MÉTODO On-farm EM PLANTAS.....	20
2.1 RESUMO.....	20
2.2 INTRODUÇÃO.....	21
2.3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
2.3.1 Busca na literatura.....	24
2.3.2 Critérios de busca e organização dos dados.....	25
2.3.3 Cálculo do effect size.....	28
2.3.4 Análise estatística.....	29
2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
2.5 CONCLUSÃO.....	38
3. PRODUÇÃO DE BIOFERTILIZANTE À BASE DE FUNGOS MICORRÍZICOS E RESÍDUOS DE INDÚSTRIA TERMOELÉTRICA.....	39
3.1 RESUMO.....	39
3.2 INTRODUÇÃO.....	40
3.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	44
3.3.1 Multiplicação do inóculo.....	44
3.3.2 Definição da concentração de resíduo.....	45
3.3.3 Formulação do substrato.....	46

3.3.4 Procedimento experimental.....	47
3.3.4.1 Experimento a campo.....	47
a) Hospedeiro vegetal.....	47
b) Delineamento e desenvolvimento experimental.....	48
3.3.4.2 Experimento em casa de vegetação.....	49
a) Delineamento e desenvolvimento experimental.....	49
3.3.4.3. Coleta e avaliação dos experimentos.....	50
3.3.5 Análise estatística.....	51
3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
a) Colonização micorrízica.....	53
b) Produção de esporos.....	56
3.5 CONCLUSÃO.....	59
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	60
REFERÊNCIAS.....	61

1. INTRODUÇÃO GERAL

A agricultura caracteriza-se pela constante interferência humana como modificadora do cenário natural com o objetivo de proporcionar maior rentabilidade durante seu desenvolvimento. A introdução de elementos considerados nutrientes para as plantas, de fonte exógena faz-se necessário, visto a demanda crescente das espécies cultivadas e a baixa presença destes em formas disponíveis para absorção pelas plantas nos solos brasileiros (BENÍCIO, 2022).

No entanto, no Brasil não se desenvolve uma produção efetiva de fertilizantes químicos suficiente para suprir a demanda existente, tornando o país dependente da importação desses insumos. Montovani, Valente e Bastos (2023) ressaltam a atual posição do Brasil como 4º maior importador de fertilizantes químicos, estando atrás apenas da China, Índia e EUA. Este fato evidencia a fragilidade da posição brasileira frente a instabilidades do mercado e das políticas internacionais, visto que apenas 20% da demanda por estes produtos é suprida pela produção interna. Deste modo, a crescente dependência por estes insumos importados impacta a produção agrícola, tornando-a onerosa, principalmente quando fatores externos causam a indisponibilidade destes produtos no mercado interno (BRASIL, 2022).

Neste cenário, a procura por produtos alternativos capazes de suprir as necessidades do setor agrícola tem evidenciado a utilização de resíduos como recursos mais acessíveis, menos onerosos, mitigando os impactos negativos ao meio ambiente, estabelecendo um crescente interesse por estes produtos.

Os resíduos industriais apresentam-se segundo descrito pela NR 25 (Norma Regulamentadora) atualizada pela Portaria nº 3994 de 2022 (BRASIL, 2024), como materiais diversos descartados ou subprodutos provenientes de diversos processos de fabricação, transformação, beneficiamento ou produtos provenientes de serviços ocorridos em indústrias, podendo ser sólido, líquido ou gasoso, que não apresentam nenhum valor econômico direto agregado. Sendo, por vezes, danosos ao meio ambiente quando descartados incorretamente.

O desenvolvimento industrial no Brasil caracteriza-se por abranger vários setores, visto sua ampla extensão territorial e biodiversidade, de modo que diferentes regiões do país favorecem a instalação de indústrias variadas. Essa grande diversidade permite a geração de distintos tipos de resíduos, cada um com suas particularidades e características únicas, que

podem ser potencialmente utilizados na composição de insumos, contribuindo para um ciclo produtivo sustentável e inovador.

O reaproveitamento de subprodutos e resíduos, também, reduz os impactos causados no meio ambiente advindos de sua deposição e consequente acúmulo nos locais de depósito, adequados ou não. Além de, promover a realização da “economia circular”, em que qualquer elemento (exceto rejeito) adquire a capacidade de reintegrar a cadeia produtiva, principalmente após a modificação do material original (SOBRAL; SOUZA; BARROS, 2021).

Em sua maioria os resíduos provenientes de indústria apresentam em sua composição uma gama de elementos considerados nutrientes para as plantas, apresentando-se assim uma alternativa para utilização como fonte de macro e micronutrientes ao serem utilizados como fertilizantes ou integrarem biofertilizantes (SCHUTZ *et al.*, 2018).

A reutilização de resíduos, por sua vez, possui amparo legal através da Resolução nº 465 de 2014 do CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) (BRASIL, 2014) e na Resolução nº481 de 2017 (BRASIL, 2017). Estas atuam regularizando, através do estabelecimento de critérios específicos, a utilização de resíduos de origem industrial como insumos no desenvolvimento de atividades agrícolas e florestais.

O estudo desenvolvido por Nogueira *et al.* (2012) demonstrou que diferentes doses de dois resíduos industriais: escória de siderurgia (possuindo em sua composição silicatos de cálcio (Ca_2SiO_3) e de magnésio (Mg_2SiO_3) e óxido de magnésio (MgO) como componente de biofertilizante atuaram de forma similar a aplicação de calcário em solos de cultivo de café (*Coffea arabica*). Resultados positivos, também, foram observados por Costa (2020) nas culturas de milho e feijão quando adicionados um fertilizante à base de gesso agrícola, obtendo desempenhos positivos até a dose de 4 toneladas ha^{-1} , formulado com lama de cal residual de indústria de celulose e com ácido sulfúrico residual de baterias automotivas.

Outras indústrias, como a de geração de energia, realizada a partir da pirólise da madeira em termelétricas, apresenta como subproduto de sua atividade o biochar ou biocarvão. Durante a queima a matéria prima original passa por um completo rearranjo dos átomos de carbono, melhorando as qualidades físicas e químicas, especialmente aumentando a área superficial de contato e, consequentemente promovendo maior a adsorção de nutrientes (ATKINSON *et al.*, 2010). Segundo Sohi *et al.* (2010) os biocarvões, no geral, possuem concentrações de fósforo (P), potássio (K) e outros elementos em formas solúveis

mais acessíveis às plantas do que na matéria prima favorecendo sua utilização como aporte nutricional nas plantas. Tais fatores que tornam interessantes o aproveitamento destes biocarvões na formulação de fertilizantes e biofertilizantes.

Ressalta-se, no entanto, que a utilização destes resíduos deve ser realizada, após a verificação de viabilidade, pois alguns materiais podem conter elementos que quando em altas concentrações atuam como contaminantes dos solos e água, além de apresentarem certa toxicidade ao crescimento vegetal como é o caso de cobre, zinco e manganês (CAJAMARCA *et al.*, 2019; JASTRZEBSKA *et al.*, 2018). A formulação de biofertilizantes com resíduos industriais como componentes de substrato, desta forma, apresenta-se como uma alternativa para o reaproveitamento destes elementos.

Os biofertilizantes, como exposto na IN 61 (Instrução Normativa) de 2020 com base no disposto pela Lei 6894 (1980) e no Decreto nº 4954 (2004) (BRASIL, 2004), caracterizam-se por serem produtos englobados pela definição de bioinsumos. Assim, apresentam-se como elementos orgânicos, normalmente provenientes da reutilização de resíduos que possuem em sua composição princípio ativo ou agente orgânico de microrganismos não específicos. Estes organismos atuam beneficiando o desenvolvimento de espécies vegetais, direta ou indiretamente, pois proporcionam um maior crescimento vegetal, incrementos de produtividade e promovem o condicionamento dos solos, disponibilizando nutrientes e melhorando a qualidade química e física destes (KOUR *et al.*, 2020).

Segundo Seenivasagan e Babalola (2021), biofertilizantes podem ser descritos como preparações de componentes diversos detentores de algas, fungos ou bactérias que, isolados ou em conjunto, proporcionam incrementos de produtividade nos cultivos. Os biofertilizantes, devido às características intrínsecas de seus componentes atuam como condicionadores do solo, modulando a microbiota local, e promovendo a saúde vegetal auxiliando na tolerância a estresses como a seca e a salinidade. Atuam, também, como uma fonte de liberação lenta de macro e micronutrientes essenciais para o desenvolvimento das culturas (SCHÜTZ *et al.*, 2018).

No estudo realizado por Schütz *et al.* (2018) demonstra-se que a utilização de biofertilizantes podem aumentar em até 4% o rendimento de diferentes culturas e em diferentes condições climáticas. Galbiatti *et al.* (2011) em seu trabalho com feijoeiro verificaram que diferentes doses de biofertilizantes proporcionam maior crescimento da parte área da cultura, proporcionando incremento de massa seca, caule e pecíolo. O

crescimento foi linear, com ou sem, a utilização complementar de fertilizantes químicos, igualando-se aos efeitos provenientes da utilização da dose cheia destes materiais.

A utilização de biofertilizantes, além disso, promove modificações no solo passíveis de influenciar os efeitos de estresses abióticos sobre as culturas. Isso foi demonstrado por Sousa *et al.* (2012) através da verificação de que maiores doses de biofertilizantes são capazes de minimizar os efeitos deletérios da utilização de águas salinas durante a irrigação sobre o crescimento inicial de plantas de milho.

Os benefícios proporcionados pela utilização dos biofertilizantes encontram-se intimamente relacionados com seus componentes, que podem ser separados em dois fatores: o agente biológico (bactérias, fungos, entre outros) e o substrato carreador. Entre os microrganismos benéficos que se associam às plantas, destacam-se os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs).

Os FMAs caracterizam-se por serem microrganismos biotróficos, sendo encontrados naturalmente nos solos onde desenvolvem relações simbióticas mutualísticas com diversas espécies vegetais. (BONFANTE; GENRE, 2010; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Por possuírem a capacidade de estabelecer interações simbióticas mutualísticas com cerca de 80% das famílias já descritas, estão distribuídos em praticamente todos os lugares e ecossistemas do planeta (CARDOSO; ANDREOTE, 2020).

Ao colonizar o córtex radicular do hospedeiro os FMAs desenvolvem tanto estruturas de colonização internas (hifas, arbusculos e em algumas espécies vesículas) quanto componentes externos. Neste caso, destaca-se a importância das hifas extra-radulares com potencial de estender a zona de exploração do solo, aumentando a absorção de água e nutrientes ao hospedeiro vegetal (BERBARA *et al.*, 2006; STOFFEL *et al.*, 2020). Berbara *et al.* (2006) destaca ainda, a característica dinâmica das associações micorrízicas, podendo estar presentes durante todo o ciclo de vida de uma cultura ou apenas em momentos específicos de seu desenvolvimento.

A associação formada entre os FMAs e o hospedeiro traz diversos benefícios para ambos os envolvidos. Em micorrizas funcionais é característica a formação de um fluxo de nutrientes e compostos de carbono. Este relacionamento, para os FMAs, desenvolve-se de forma obrigatória, tornando esses microrganismos dependentes dos fotoassimilados (compostos de carbono) fornecidos pelo hospedeiro (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Para as plantas, um dos principais benefícios da interação consiste no aumento da capacidade de absorção de nutrientes, impactando significativamente a aquisição de fósforo

(P), que possui baixa mobilidade no solo e é crucial para o metabolismo vegetal (STOFFEL *et al.*, 2020). Outra característica do uso de FMAs consiste na capacidade de induzir tolerância a estresses ambientais, principalmente quando provenientes de fatores abióticos como o excesso de sais, metais pesados ou contaminantes e ao estresse hídrico (FOLLI-PEREIRA *et al.*, 2012). Como demonstrado na meta-análise de Delavaux *et al.* (2017), a ação dos FMAs sobre parâmetros não nutricionais, como a resistência a doenças, fluxo de água e agregação do solo influenciam diretamente o desenvolvimento das culturas. Deste modo, as variações de respostas ao estabelecimento da relação podem ser relacionadas, principalmente, à genética da planta envolvida e receptividade à associação.

Os FMAs, ainda, são capazes de influenciar a sanidade vegetal ao interferirem no desenvolvimento de outros microrganismos. Desta forma, podem influenciar o desenvolvimento de doenças radiculares, seja pelas alterações causadas no tecido vegetal durante a colonização radicular ou por modificações metabólicas como maior atividade fotossintética e enzimática (SAMPAIO *et al.*, 2012) através da síntese de substâncias como hormônios e proteínas atuantes na atividade do sistema imune das plantas (CAMERON *et al.*, 2013) ou pela modificação da microbiota localizada na área de influência no solo (SMITH; READ, 1997). Dalla Costa (2010) aponta que a presença de FMAs possui a capacidade de reduzir a severidade de doenças radiculares como as ocasionadas por fungos como o *Fusarium*, *Phytophthora* e *Rhizoctonia* e bactérias como a *Pseudomonas* comumente encontrados nos solos brasileiros. Todavia, cabe-se ressaltar que a presença destas associações não elimina o patógeno, nem impede a ocorrência da doença, e sim, atua como um atenuante dos sintomas, sendo influenciada pelo momento da infecção (associação deve ser anterior a manifestação do patógeno) e a taxa de colonização, pois está intimamente relacionado às modificações advindas das substâncias produzidas pelas plantas quando em associação que quando liberadas para o espaço apoplástico atuam estimulando o sistema de defesa primário das plantas (DALLA COSTA, 2010; FOLLI-PEREIRA *et al.*, 2012).

Os FMAs possuem a capacidade de alterar a microbiota presente nas porções de solo sob influência de raízes (rizosfera) e no entorno das próprias estruturas (micorrizosfera), regulando e selecionando populações de microrganismos localizados neste espaço e consequentemente exercendo uma competição direta e indireta pelos sítios de infecção e pelos recursos ali presentes (LINDERMAN, 1988; CORDIER *et al.*, 1998). Em síntese, as alterações morfológicas e fisiológicas advindas da presença de associações micorrízicas influenciam o desenvolvimento de plantas, tornando-as mais saudáveis e menos sensíveis a

estresses. Também proporcionam incrementos em diversos parâmetros de interesse nas espécies cultivadas como massa seca, altura de planta, produtividade, absorção de fósforo, nitrogênio e potássio.

Embora benéficos ao desenvolvimento vegetal e capazes de serem incorporados em produtos de uso agrícola, a oferta de produtos a base de FMAs ainda é limitada no Brasil. A dificuldade de obtenção destes insumos relaciona-se à falta de produtos comerciais que contenham FMAs em sua formulação. Atualmente, encontra-se disponível no mercado interno apenas um inoculante a base de FMAs, devidamente registrado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o *Rootella* BR e seu derivado o *Rootella* Ultra, cuja recomendação limita a utilização as culturas do milho e soja. (<https://www.rootellabr.com.br/>).

Neste cenário, a metodologia *On-farm* apresenta-se como uma facilitadora ao acesso a esses recursos, pois permite que a produção, multiplicação e uso de insumos biológicos, como biofertilizantes e agentes de controle biológico, ocorra diretamente nas propriedades agrícolas, em vez de depender de fornecedores externos.

O conceito principal do método *On-farm* baseia-se na busca pela autossuficiência do agricultor na produção de insumos biológicos, utilizando recursos e resíduos disponíveis localmente. O método surgiu a partir de pesquisas de microbiologia e ecologia aplicadas à agricultura, mas a origem formal ou um formulador específico é difícil de apontar, pois ele vem sendo consolidado por pesquisadores e agricultores ao longo do tempo em resposta às demandas de práticas mais sustentáveis e menos onerosas. Pesquisadores como Douds Jr. e colaboradores, a partir dos anos 2000, têm promovido a técnica *On-farm* como forma prática para agricultores cultivarem e aplicarem microrganismos benéficos, especialmente em pequena e média escala.

A aplicação da metodologia *On-farm* permite o desenvolvimento de diversas variações da técnica. Um exemplo, ocorre com os estudos de Douds Jr. e colaboradores (2000), em que a multiplicação dos FMAs foi realizada em vasos. Divergindo, desta forma, de precedentes como Sieverding (1997 e 1981) com a produção de inoculante a base de fungos micorrízicos diretamente aplicados em solo previamente fumigado. Sharma; Adholeya (2000) também demonstraram a eficiência na produção de biofertilizantes contendo FMAs quando multiplicados pelo método *On-farm* em canteiros elevado, inclusive promovendo testes sobre a eficiência de utilização de uma ou mais culturas como

hospedeiras durante a multiplicação e sobre a necessidade de fumigação das espécies indígenas do solo utilizado.

A metodologia *On-farm*, de forma geral, apresenta-se como a utilização de material particulado como solo, areia, vermiculita, compostos orgânicos ou resíduos como componentes de um substrato, esterilizado ou não. Neste substrato são inseridos inóculos do microrganismo de interesse, no caso, FMAs isolados (uma espécie) ou na forma de mix (mais de uma espécie) e uma planta hospedeira detentora de afinidade com estes microrganismos. Sendo, necessariamente, desenvolvido dentro de uma propriedade agrícola voltada à aplicação em cultivos. Douds Jr. *et al.* (2016), por exemplo, apresenta os incrementos na produção de *Solanum lycopersicum* (tomate) advindos da utilização de um biofertilizante contendo FMAs. No entanto, destaca-se em seu trabalho a diferença de resposta conforme a variedade utilizada, demonstrado que pode ocorrer a especificidade de hospedeiro, de acordo com a variedade da planta e o FMA utilizado. Douds Jr. *et al.* (2017) também aponta o incremento na produtividade em *Solanum melongena* (berinjela) após a utilização de FMA produzidos *On-farm*.

Sales *et al.* (2022), por sua vez, observou um maior acúmulo de açúcares advindo da inoculação por FMA em plantas de *Saccharum* spp. cultivadas a campo. Goetten *et al.* (2016) verificou influências positivas na altura, diâmetro e massa seca de espécies arbóreas nativas brasileiras quando estas foram expostas a propágulos de FMA multiplicados pela metodologia *On-farm*. Em síntese, a utilização de FMAs apresenta diversos benefícios, sendo capaz de impactar positivamente diversos tipos de cultivo.

A incorporação de resíduos industriais na formulação de biofertilizantes oferece uma alternativa sustentável e economicamente viável para o setor agrícola, contribuindo para a recuperação de solos degradados e a redução da dependência de fertilizantes químicos industriais (COSTA, 2020; JASTRZEBSKA *et al.*, 2018). A integração de biofertilizantes contendo FMAs e o uso do método *On-farm* oferecem uma abordagem sustentável e eficaz para o aumento da produtividade agrícola. Essas práticas auxiliam na recuperação de solos e na autossuficiência dos produtores, ao mesmo tempo em que reduzem a dependência de fertilizantes químicos (SMITH; READ, 2008; KOUR *et al.*, 2020). Dessa forma, ao incentivar práticas agrícolas mais acessíveis e ecologicamente responsáveis, pode-se contribuir para um futuro agrícola mais resiliente e sustentável.

Este trabalho possui como objetivo avaliar a incorporação de biochar na produção de biofertilizante contendo resíduos industriais e seus efeitos sobre a multiplicação de dois

isolados de FMAs. Deste modo, este estudo foi desenvolvido através da seguinte hipótese: a integração do método *On-farm* é viável para multiplicação de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e a incorporação de biocarvão como componente do substrato influencia negativamente a eficiência da colonização radicular e a produção de esporos nas plantas cultivadas. Tal efeito decorre do aporte nutricional, da melhoria das propriedades físicas e químicas do solo e da criação de microambientes favoráveis ao desenvolvimento micorrízico proporcionado pela utilização do resíduo. Deste modo, a alta concentração de fósforo proporcionada pelo biocarvão não influencie negativamente a multiplicação dos FMAs.

Para testar essas hipóteses, foram empregadas diferentes metodologias, que serão detalhadas nos capítulos a seguir

2. EFEITO DA INOCULAÇÃO DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES (FMA) MULTIPLICADOS PELO MÉTODO *ON-FARM* EM PLANTAS.

2.1 RESUMO

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) são microrganismos capazes de desenvolver relações simbióticas mutualísticas com espécies vegetais, através da colonização do tecido radicular. Esta associação atua beneficiando ambos os simbiontes, sendo que para as plantas as estruturas dos FMAs atuam como extensores do sistema radicular, promovendo uma melhor exploração do solo e absorção de água e nutrientes. No entanto, a utilização destes organismos, bem como sua multiplicação, apresenta certa limitação devido à característica biotrófica (necessitam de um hospedeiro vivo) dos FMAs, dificultando a produção de formulações para comercialização. Neste cenário, a utilização de estratégias alternativas, como o método *On-farm* apresentam-se como recursos que viabilizam a multiplicação de inóculos de FMA. Com base neste cenário, esta meta-análise teve como objetivo avaliar o efeito da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), multiplicados através do método *On-farm* sobre parâmetros relacionados tanto ao potencial da associação quanto aos seus efeitos sobre o desenvolvimento vegetal. Para desenvolvimento desta meta-análise procedeu-se a busca no ISI Web Science (all databases) por artigos relacionados ao tema, utilizando-se os termos “mycor*” AND “onfarm*”. Posteriormente, os artigos elencados foram selecionados conforme as diretrizes do modelo Preferred Reporting Items for Meta-analyses (PRISMA), resultando na seleção de 16 artigos para composição desta meta-análise realizada com o auxílio do Software OpenMee. A técnica empregada no desenvolvimento de meta-análises, permite a comparação de tratamentos e controles e estabelecer as relações existentes entre os efeitos gerados que são quantificados pelo tamanho do efeito gerado (effect size). Desta forma, verificou-se a existência de diferentes efeitos provenientes da utilização de FMAs multiplicados *On-farm* em diferentes cultivos. Constatando-se que os parâmetros colonização radicular, biomassa e absorção de fósforo com a utilização de FMAs multiplicados pelo método *On-farm* foram influência positivamente, mesmo em diferentes grupos funcionais. Deste modo, conclui-se que, a utilização de FMAs multiplicados *On-farm* é efetiva na promoção de benefícios às espécies vegetais.

2.2 INTRODUÇÃO

Fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são organismos presentes naturalmente nos solos, que se associam ao sistema radicular de espécies vegetais e caracterizam-se por estarem presentes em cerca 80% das plantas vasculares distribuídas por todo o globo terrestre. Destacando-se pela importância na promoção do equilíbrio e biodiversidade naturais, bem como por sua aplicabilidade como ferramenta no desenvolvimento de uma agricultura menos onerosa tanto econômica quanto ambientalmente (BERBARA *et al.*, 2006).

Os FMAs caracterizam-se por realizarem a colonização do sistema radicular das plantas, a partir de hifas que adentram o espaço entre as células do córtex das raízes. Neste tecido formam de estruturas semelhantes a pequenos arbustos provenientes da interação entre a membrana plasmática das células fúngicas e vegetais em invaginações que aumentam a superfície de contato entre os organismos, favorecendo assim o trânsito de fotoassimilados e nutrientes (SAMPAIO *et al.*, 2012; MOREIRA.; SIQUEIRA 2006). Os FMAs apresentam ainda o desenvolvimento de componentes externos ao tecido vegetal denominadas hifas extrarradiculares, estruturas que atuam como extensores do sistema radicular, permitindo a exploração de um maior volume de solo e, conseqüentemente, a absorção de uma maior quantidade de nutrientes e de água (STOFFEL *et al.*, 2020; DOUDS Jr. *et al.*, 2006).

Desta forma, os FMAs atuam proporcionando um maior aporte hídrico e nutricional para a espécie vegetal, apresentando efeitos mais significativos na absorção de elementos pouco móveis no solo, como o fósforo, um dos macroelementos essenciais para o metabolismo vegetal (FOLLI-PEREIRA, 2012; SMITH; READ, 1997).

A viabilização destes microrganismos como componentes de bioinsumos, no entanto, apresenta algumas dificuldades, sendo as principais delas a natureza biotrófica dos FMAs, ou seja, a necessidade de um hospedeiro vivo para sua sobrevivência e desenvolvimento de estruturas reprodutivas. A falta de conhecimento sobre os benefícios provenientes da utilização dos FMAs em cultivos agrícolas constituem outro fator que limita sua utilização como componente de biofertilizantes (CARDOSO; ESTRADA-BONILLA, 2019; GIACOMINI, 2019).

Em vista disto, diferentes técnicas vêm sendo adaptadas visando utilização de FMAs como um recurso para a agricultura com destaque para o cultivo *in vitro* destes organismos. Como visto, a multiplicação de FMAs não segue os padrões típicos de fungos e bactérias, sendo impossível a utilização de meios de cultura comuns. De modo que, para a confecção

de inoculantes com FMAs faz-se necessário a utilização da cultura de raízes transformadas. Essa técnica e o ambiente laboratorial, embora proporcionem uma maior produção de esporos dos FMA, apresentam efeitos deletérios sobre esses organismos seja pela seleção de organismos mais adaptados a esses ambientes (condições controlada) ou pela assepsia destes métodos que acabam por eliminar bactérias presentes tanto internamente quanto externamente aos tecidos fúngicos, afetando sua capacidade de simbiose com plantas. Além disso, poucas espécies de FMAs conseguem se adaptar a esses ambientes limitando o material a ser utilizado na formulação de inoculantes (KOKKORRIS; HART, 2019).

No Brasil, existe apenas um inoculante comercial a base de FMAs (Rootela e Rootela Ultra) devidamente registrado no MAPA e recomendado para as culturas de milho e soja, que utiliza apenas uma espécie de FMA, podendo ter consequências sobre a eficiência do inoculante em solos tropicais, bem como sobre a composição e estrutura das comunidades dos FMAs nativos. Entre as técnicas utilizadas na produção de inoculantes micorrízicos, a metodologia *On-farm* se destaca como uma alternativa para elevar o uso e a aceitação da tecnologia de inoculação deste tipo de microrganismo, que é produzido pelo usuário final no local onde será posteriormente utilizado, evitando os custos associados com a compra de um produto comercial (SHARMA; ADHOLEYA, 2000).

Para a produção de inoculante pelo método *On-farm* é recomendado o uso de misturas de solo, areia, vermiculita, ou mesmo de substratos de diferentes origens, como resíduos industriais e agrícolas (DOUDS Jr. *et al.*, 2006). Segundo Czerniak e Sturmer (2014), os subprodutos ou resíduos provenientes das atividades indústrias, por vezes, apresentam elementos passíveis de utilização como corretivos e fertilizantes agrícolas, devido aos benefícios advindos da melhoria das qualidades físicas, químicas e biológicas.

A utilização de fungos micorrízicos multiplicados *On-farm* possui a capacidade de melhorar o desempenho tanto de espécies graníferas como exposto por Hazzoumi *et al.* (2022) e Englander *et al.* (2016) com *Triticum aestivum* (trigo); *Sorghum bicolor* (sorgo) (SHI *et al.*, 2020) quanto de espécies arbóreas como demonstrado por Schoen *et al.* (2016) no crescimento em eucalipto (*Eucalyptus saligna*) , por Goetten; Moretto; Sturmer (2016) com espécies nativas *Luehea divaricata* (açóita-cavalo), *Centrolobium robustum* (araribá), *Schinus terebinthifolius* (aroeira), *Garcinia gardneriana* (bacupari), *Cedrela fissilis* (cedro), *Lafoensia pacari* (dedaleiro) e por, Oliveira Junior *et al.* (2022) em *S. terebinthifolius* (aroeira).

Os efeitos da inoculação de FMA multiplicados de modo *On-farm* também foram observados em plantas frutíferas e hortícolas como o morangueiro (*Fragaria x ananassa* cv. Chandler) por Douds Jr. *et al.* (2012), berinjela (*Solanum melongena*) (DOUDS Jr. *et al.*, 2017) e abacaxi (*Ananas comosus*) (MOREIRA *et al.*, 2019), nas quais o uso de biofertilizantes aumentaram a biomassa, o crescimento vegetativo e a produtividade.

FMAs, no entanto, apresentam uma estreita interação com o ambiente e com os hospedeiros vegetais em simbiose, sendo a capacidade de formação de micorrizas funcionais, por vezes, restringida por estes fatores (SHAO *et al.*, 2023). A concentração de fósforo do solo ou do substrato de cultivo, por exemplo, apresenta-se como um dos principais limitantes da formação das micorrizas, sendo que a presença deste nutriente em baixas concentrações atua benéficamente sobre a associação entre plantas e FMA. No entanto, maiores quantidades de P tendem a afetar negativamente, inclusive inibindo a colonização radicular (RICHARDSON *et al.*, 2011). Além da concentração de nutrientes, outro fator que afeta a capacidade de simbiose entre FMAs e plantas consiste no comportamento variável destes organismos (BRUNDRETT, 2002). Neste cenário, estudos indicam que entre as espécies vegetais conhecidas cerca de 7% apresentam inconstâncias na formação destas associações, oscilando entre a classificação de plantas micorrízicas e não micorrízicas, conforme o grau de dependência e de eficiência das simbioses (BRUNDRETT, 2002).

Outros estudos apontam, também, que características específicas como as existentes entre cultivares podem influenciar a eficiência da associação micorrízica. Douds Jr. *et al.* (2012), por exemplo, em seu trabalho com diferentes cultivares de *Capsicum annum*, perceberam que respostas diferentes de genótipos à associação com a mesma espécie de FMA e em um mesmo ambiente. Isto foi avaliado através da constatação de desenvolvimento de respostas nulas (sem efeitos benéficos da utilização de FMA em parâmetros agronômicos), negativas (queda do desempenho das plantas analisadas comparadas a um controle) e positivas (aumento do desempenho das plantas analisadas em parâmetros agronômicos) em um mesmo experimento com a utilização de diferentes cultivares da mesma espécie.

Schlemper e Sturmer (2014), destacam que embora os FMAs apresentem uma ocorrência natural, esta ocorre de forma heterogênea, sendo por vezes fortemente influenciada pelo tipo de solo e vegetação do seu local de desenvolvimento. Desta forma, uma vez determinando-se as condições adequadas, a multiplicação destes organismos *On-farm* permite maximizar a produção de propágulos e consequentemente o aproveitamento

como recurso, de forma mais econômica e sustentável. Isto, permite a confecção de insumos no interior de propriedades agrícolas, diminuindo custos relativos a aquisição e transporte de insumos, bem como, possibilitam o reaproveitamento de resíduos e utilização como fonte de nutrientes e condicionadores de ambiente (CHAIYASEN *et al.*, 2017).

Além disso, como relatado por Douds Jr. *et al.* (2006) os elementos utilizados como carreadores destes organismos podem interferir no desenvolvimento da simbiose, principalmente quando possuem alta concentração de nutrientes na composição, sendo necessário a constante busca por substratos que atuem como maximizadores de desempenho, evitando-se materiais que inibem a produção de esporos dos FMAs.

Desta forma, esta meta-análise tem por objetivo avaliar o efeito da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), multiplicados através do método *On-farm*, sobre o crescimento vegetal.

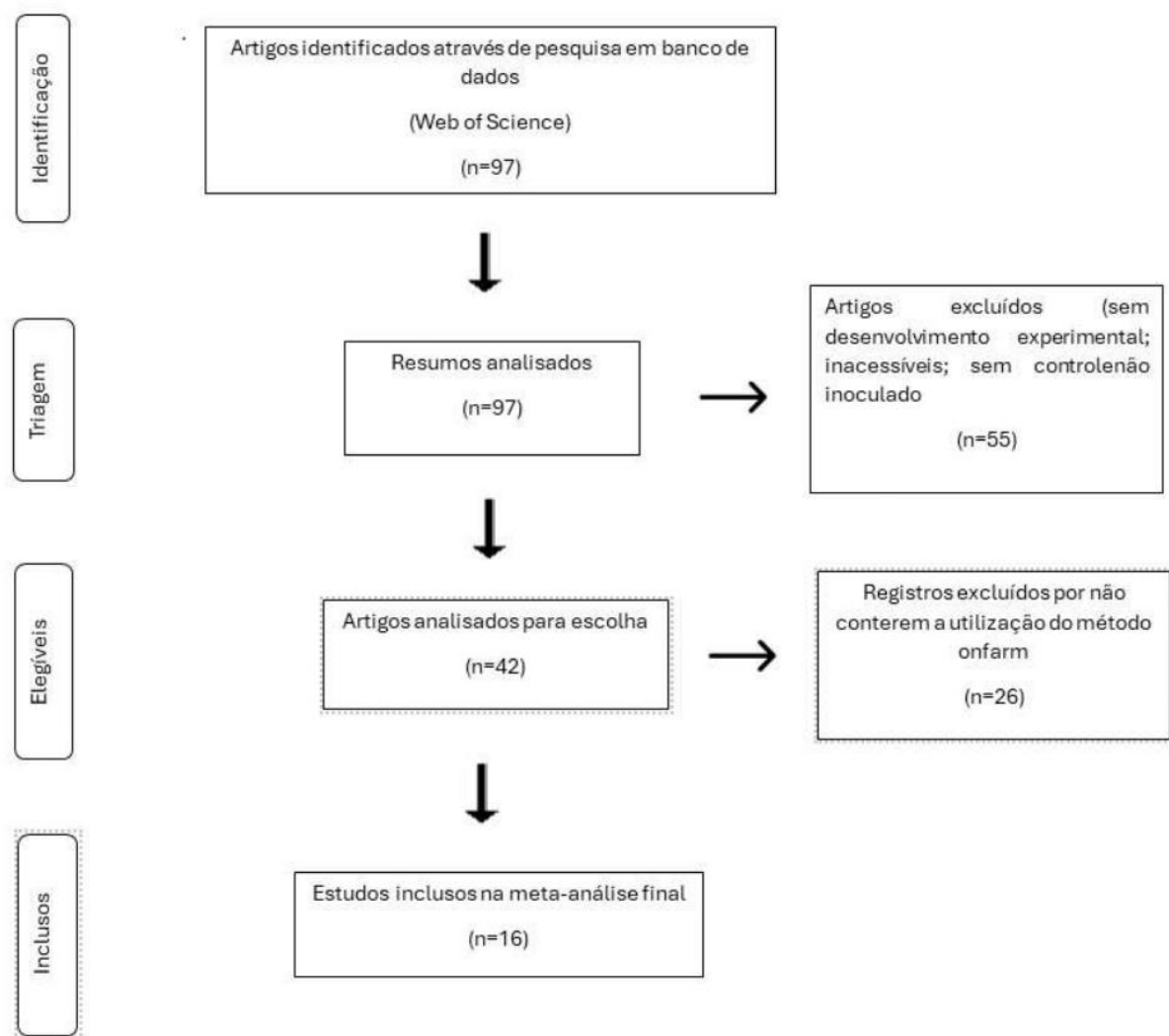
2.3 MATERIAIS E MÉTODOS

2.3.1 Busca na literatura

Pesquisou-se artigos usando o ISI Web of Science (*all Databases*) em março/abril de 2024, utilizando-se os termos “mycor*” AND “On-farm”. Esta pesquisa resultou em 97 artigos elencados por ordem de prioridade da própria plataforma. A utilização do caractere “*” permitiu que palavras relacionadas como micorrizas e micorrízico fossem incluídas na busca.

Posteriormente os artigos foram triados seguindo as diretrizes *Preferred Reporting Items for Meta-analyses* (PRISMA). Conforme representado na Figura 1:

Figura 1: Preferred Reporting Items for Meta-analyses (PRISMA)



Fonte: elaborado pela autora, 2024

2.3.2 Critérios de busca e organização dos dados

Dois critérios foram estabelecidos para a seleção dos artigos, sendo elas: 1) a inclusão nos experimentos de um tratamento desenvolvido com a inoculação de FMAs e um controle não inoculado, podendo este ter passado por processo de esterilização ou não; 2) a utilização obrigatória de inóculos de FMA multiplicado pela metodologia *On-farm*.

Nos artigos que atenderam aos critérios de busca (total = 16), foram coletados dados referentes a colonização radicular, número de esporos, massa seca da parte aérea e concentração ou acúmulo de nutrientes como fósforo, nitrogênio e potássio no tecido vegetal. Alguns trabalhos incluíram múltiplas espécies de FMA ou de plantas, ou coletou informações em diferentes anos de cultivos, sendo possível a extração de mais de um tamanho de efeito para o mesmo estudo. Comportamentos semelhantes podem ser

visualizados em outras meta-análises como em Primieri *et al.* (2021), Lekberg; Koide (2005), Qingyan *et al.* (2022), entre outros.

Em cada ponto de dado dos estudos foram registrados a situação do experimento (campo, viveiro ou casa de vegetação), o tipo de substrato utilizado para produção do *On-farm* (componentes, substrato esterilizado ou não), a espécie de FMA, como isolado ou mix (mistura de espécies) (Tabela 1), a espécie e família dos hospedeiros vegetais empregados, fatores que podem influenciar a capacidade de colonização e a eficiência das associações micorrízicas. Além disso, as espécies vegetais foram classificadas quanto ao grupo funcional a qual pertencem (gramínea, herbácea ou lenhosa, fixadoras ou não de nitrogênio), de acordo com a abordagem descrita no trabalho do HOEKSEMA *et al.* (2010).

Para a coleta de dados provenientes de representações gráficas utilizou-se o software ImageJ (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>), para o registro preciso das médias e erros de cada amostragem. Quando o estudo não forneceu o erro padrão ou outra medida de dispersão dos dados, que pudesse ser usado para calculá-lo, foi usado o método citado por HOEKSEMA *et al.* (2018) para estimá-lo.

Tabela 1: Substratos e espécies de FMA utilizados nas publicações científicas revisadas na meta-análise

Artigo	Substrato	FMA	Espécie Vegetal
Englander <i>et al.</i> , 2016	Areia de filtro de piscina, solo não esterilizado, turfa e perlita grossa	<i>Glomus claroideum</i> , <i>G. etunicatum</i> , <i>Gigaspora gigantea</i> and <i>G. mosseae</i>	<i>Triticum aestivum</i>
Douds Jr. <i>et al.</i> , 2016 a	Composto, vermiculita, perlita, turfa	<i>Rhizophagus intraradices</i> , <i>Claroideoglomus claroideum</i> , <i>Funneliformis mosseae</i>	<i>Zea mays</i>
Czarniak; Stürmer, 2014	Resíduo de pinos, solo, casca de arroz carbonizada	<i>Claroideoglomus etunicatum</i> e <i>Dentiscutata heterogama</i>	<i>Sorghum bicolor</i>

Schoen <i>et al.</i> , 2016	Lodo de celulose, casaca de arroz carbonizada, solo	<i>Claroideoglomus etunicatum</i> ; <i>Dentiscutata heterogama</i>	<i>Schinus terebinthifolius</i> ; <i>Eucalyptus saligna</i>
Goetten <i>et al.</i> , 2016	Solo franco argiloso, casca carbonizada de arroz	<i>Rhizophagus clarus</i> e <i>Claroideoglomus etunicatum</i>)	<i>Luehea divaricata</i> ; <i>Centrolobium robustum</i> ; <i>Schinus terebinthifolius</i> ; <i>Garcinia gardneriana</i> ; <i>Cedrela fissilis</i> ; <i>Lafoensia pacari</i>
Moreira <i>et al.</i> , 2019	Solo, vermiculita, bagaço de cana	Fmas indígenas de cultivo de café e de abacaxi; <i>Rhizophagus clarus</i> ; <i>Claroideoglomus etunicatum</i>	<i>Ananas comosus</i>
Douds Jr. <i>et al.</i> , 2017	Composto, vermiculita	<i>Funneliformis mosseae</i> , <i>Claroideoglomus</i> <i>claroideum</i>	<i>Solanum melengena</i>
Douds Jr. <i>et al.</i> , 2008	Composto de aparas de quintal, vermiculita	<i>Glomus geosporum</i> , <i>Glomus claroideum</i> , <i>Glomus etunicatum</i> , <i>Gigaspora rosea</i>	<i>Fragaria x Ananassa</i>
Sales <i>et al.</i> , 2022	Areia lavada autoclavada, solo natural	<i>Mix de espécies (coletado na área experimental)</i>	<i>Saccharum spp</i>
Douds Jr. <i>et al.</i> , 2016 b	Composto, vermiculita	<i>Funneliformis mosseae</i> , <i>Claroideoglomus claroideum</i> , <i>Funneliformis geosporum</i> , <i>Claroideoglomus etunicatum</i> , <i>Rhizophagus interadices</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>
Douds Jr. <i>et al.</i> , 2012 a	Composto de aparas de jardim, vermiculita	<i>Glomus mosseae</i> ; <i>Glomus claroideum</i> , <i>Glomus geosporum</i> ; <i>Glomus</i>	<i>Capsicum annum</i>

*etunicatum; Glomus
interadices*

Douds Jr. <i>et al.</i> , 2012 b	Composto de aparas de jardim, vermiculita	<i>Glomus mosseae; Glomus claroideum, Glomus geosporum; Glomus etunicatum; Glomus interadices</i>	<i>Allium porrum</i>
Douds Jr. <i>et al.</i> , 2007	Composto de aparas de jardim, vermiculita	<i>Glômus mosseae; Glômus etunicatum; Glômus claroideum e Gigaspora gigante</i>	<i>Solanum tuberosum</i>
De Nardi <i>et al.</i> , 2024	Areia	<i>Acaulospora mellea; A. caulospora morrowiae; Cetraspora pellucida; Clareideoglomus etunicatum; Glomus sp.; Septoglomus viscosum</i>	<i>Fragaria x Ananassa</i>
Pellegrino <i>et al.</i> , 2011	Solo, Terragreen(argila calcinada)	<i>Glomus mosseae; Glomus interadices</i>	<i>Trifolium alexandrinum; Zea mays</i>
Mohandas, 2012	Areia estéril, solo estéril	<i>Glomus fasciculatum; Glomus mosseae</i>	<i>Carica papaya</i>

Fonte: elaborado pela autora, 2024

2.3.3 Cálculo do *effect size*

O cálculo do *effect size* (tamanho do efeito) foi realizado através da utilização do logaritmo natural da razão de resposta (*natural log of response ratio* lnRR) para avaliação do tamanho do efeito na meta-análise (PRIMIERI, et al., 2021). Deste modo, utilizou-se a resposta média de plantas inoculadas com os microrganismos de interesse (FMA) e a resposta média do tratamento controle (sem inoculação) para a realização do cálculo sobre os efeitos da presença de FMAs inoculados, seguindo a fórmula (Figura 2):

Figura 2: Fórmula utilizada para o cálculo do lnRR.

$$\ln RR: \ln [x \text{ tratamento} / x \text{ controle}]$$

Calculou-se lnRRs desta forma para todas as variáveis de resposta adquiridas (colonização radicular, número de esporos, massa seca, absorção de P. A variância estimada para os efeitos médios foram calculadas como (Figura 3):

Figura 3: Fórmula utilizada para o cálculo da variância.

$$\text{Var} (\ln RR) = [(S^2t / nt * X^2t) + (S^2c / nc * X^2c)]$$

Para cada efeito médio X= t (tratamento) e c (controle), usou-se n para designar o tamanho da amostra X a média entre estudos e Var x a variância combinada entre estudos.

2.3.4 Análise estatística

Inicialmente foi realizada uma meta-análise univariada que incluiu os seguintes parâmetros de resposta da planta: biomassa seca total (raiz e parte aérea, ou apenas parte aérea quando os dados de massa seca da raiz não estavam disponíveis), altura da planta, colonização total micorrízica, número de esporos e concentração de P, N e K na planta.

A resposta de crescimento foi usada como um padrão geral para o desenvolvimento da planta. Além disso, realizou-se a meta-análise em subgrupos, classificando espécies de plantas de acordo com os grupos funcionais, famílias botânicas e experimentos em condições de crescimento a campo ou em casas de vegetação.

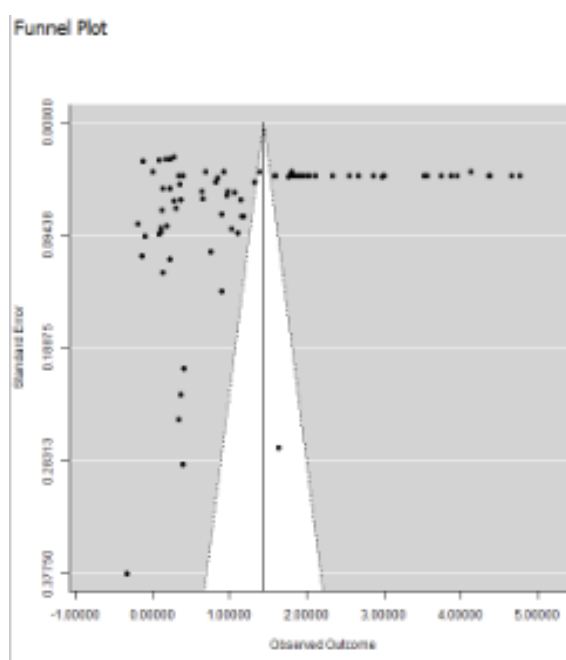
As diferenças entre as categorias de dados foram analisadas usando modelos de meta-regressão múltipla, incluindo os fatores fixos e suas interações, usando máxima verossimilhança como efeitos aleatórios, em uma análise paramétrica com 95% de confiança. Todos os tamanhos de efeito foram analisados com efeitos aleatórios contínuos, modelo DerSimonian-Laird usando o software OpenMEE (Wallace et al., 2017) com intervalos de confiança (IC) de 95%.

Para cada categoria avaliada, os valores de P foram usados para indicar as diferenças significativas entre os níveis de corte. Considerou-se um tamanho de efeito médio significativo quando o IC de 95% não se sobrepõe a zero. Neste trabalho, um tamanho de

efeito médio positivo indica um efeito maior em resposta à presença do inoculante micorrízico.

O potencial viés de publicação foi avaliado examinando gráficos de funil (variância do tamanho do efeito plotada em relação aos valores residuais) para cada meta-análise univariada (Figuras 4, 5 e 6) e o número de estudos que teriam que ser adicionados para alterar os resultados do modelo univariado inicial dos principais parâmetros analisados.

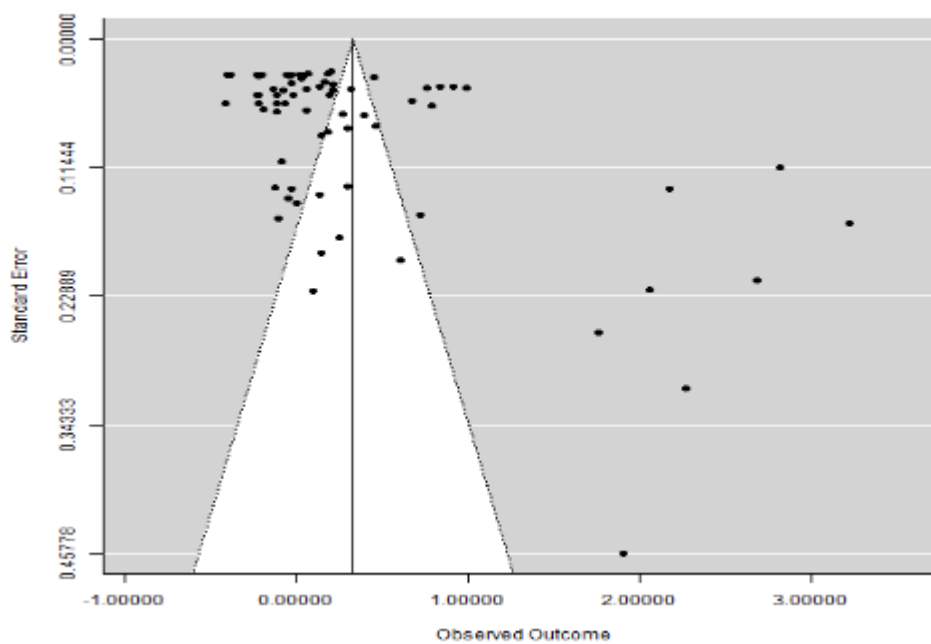
Figura 4: Dados de colonização radicular coletados em artigos científicos plotados em funil para avaliar o potencial de publicação de meta-análise.



Fonte: elaborado pela autora, 2024

Figura 5: Dados de biomassa coletados em artigos científicos plotados em funil para avaliar o potencial de publicação de meta-análise.

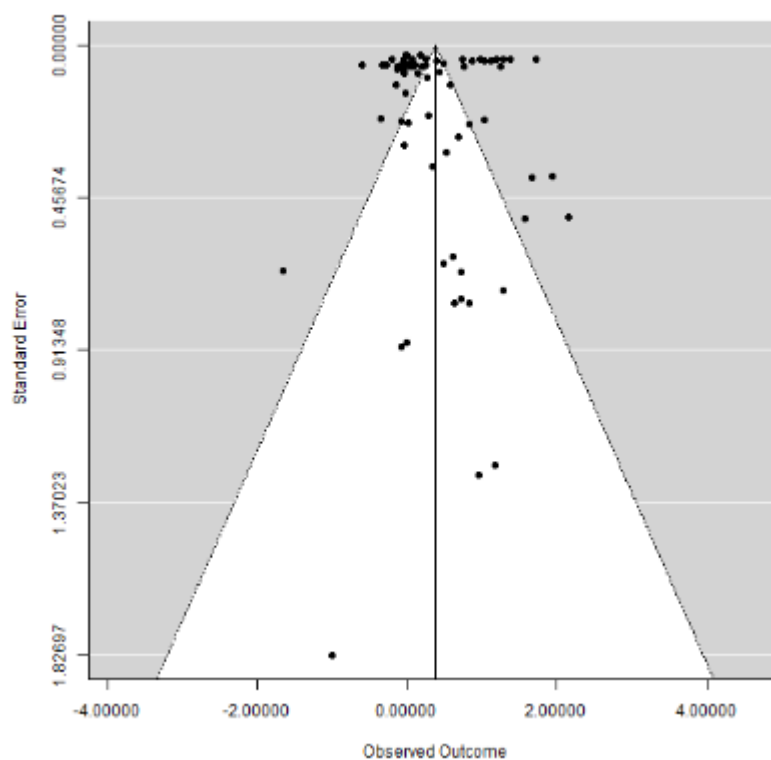
Funnel Plot



Fonte: elaborado pela autora, 2024

Figura 6: Dados de absorção de fósforo coletados em artigos científicos plotados em funil para avaliar o potencial de publicação de meta-análise.

Funnel Plot

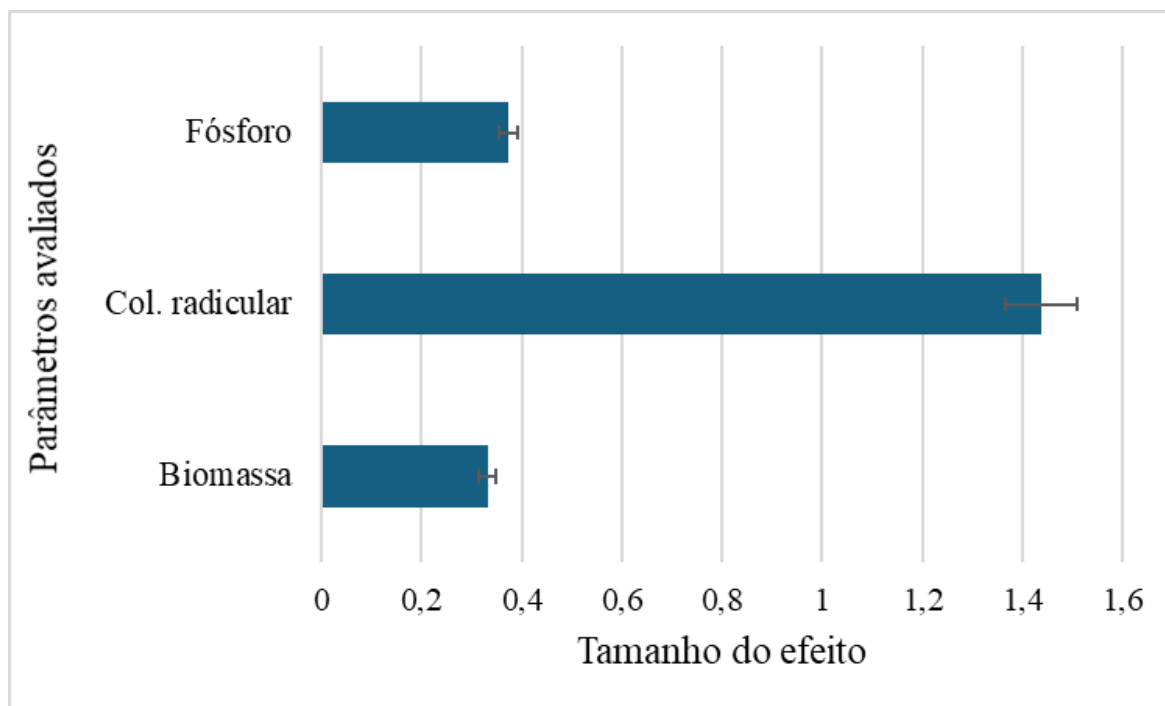


Fonte: elaborado pela autora, 2024

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para os parâmetros avaliados nesta meta-análise a utilização de FMAs *On-farm* influenciou positivamente o incremento de biomassa, a taxa de colonização radicular e a concentração de fósforo no tecido vegetal quando comparado aos controles. Na figura 7 demonstra-se o tamanho do efeito obtido pela avaliação dos artigos elencados.

Figura 7: Tamanho do efeito da utilização de FMAs no incremento de biomassa, colonização radicular e absorção de fósforo provenientes de meta-análise da literatura.



Fonte: elaborado pela autora, 2024

A multiplicação de FMAs pelo método *On-farm* possui o potencial de permitir a obtenção de um maior número de propágulos. Deste modo, tende-se a aumentar a probabilidade de carregamento de esporos viáveis e consequentemente potencializa-se a capacidade de colonização radicular por parte dos microrganismos no inoculante *On-farm* produzido.

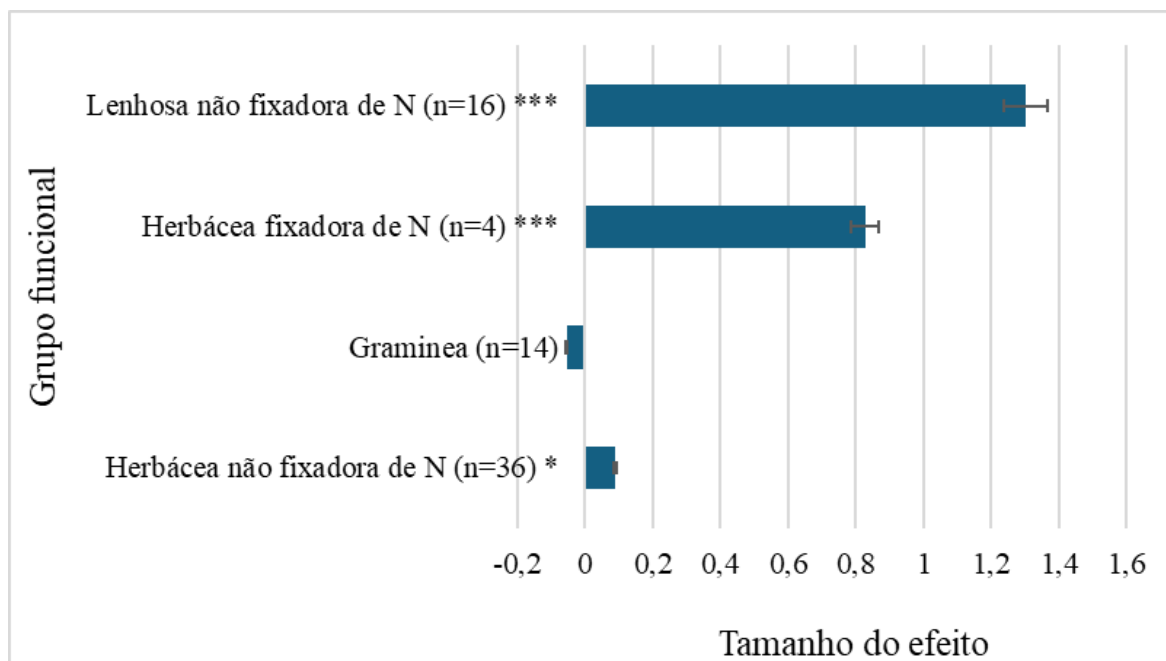
Efeitos semelhantes, como o maior incremento de nutrientes, principalmente de fósforo, foram relatados durante o desenvolvimento de outras meta-análises. Develaux *et al.* (2017), por exemplo, denotam tamanhos de efeitos positivos da associação micorrízica na absorção de nutrientes e no crescimento das plantas. Os autores, enfatizam a ocorrência de efeitos de magnitude semelhante em características não nutricionais (agregação do solo, fluxo de água e resistência a doenças) capazes de influenciar o desenvolvimento vegetal, incluindo a capacidade de absorção de nutrientes.

Estudos como o de Jayne e Quigley (2013) demonstram que mesmo em plantas submetidas a estresse hídrico a associação com FMAs é capaz de influenciar positivamente parâmetros como o acúmulo de massa e crescimento vegetativo de espécies vegetais, com tamanhos de efeito semelhantes ao verificado neste trabalho.

Outros estudos, no entanto, apontam que fatores como a concentração de nutrientes presentes no solo, principalmente fósforo, podem impactar negativamente a capacidade dos FMAs de colonizar o sistema radicular das plantas, com tamanhos de efeitos comparáveis aos apresentados pelos benefícios da associação. Desta forma, podem mascarar a influência dos FMA sobre os cultivos quando na presença de adubação (TRESEDER, 2004). Além disso, percebe-se a existência de uma ampla variação nos efeitos advindos da utilização dos FMAs multiplicados *On-farm*, quando avaliados conforme o grupamento funcional de cada espécie (Figura 8), com diferentes respostas para cada parâmetro avaliado (HOEKSEMA *et al.*, 2010)

A utilização de FMAs multiplicados *On-farm* quando aplicados em diferentes culturas proporcionou um aumento significativo no acúmulo de biomassa quando comparado aos controles. Os efeitos sobre plantas, enquadradas nos grupamentos funcionais: lenhosas não fixadoras de N e herbáceas fixadoras de N (1,301 e 0,828, respectivamente $p < 0,001$) e herbáceas não fixadoras de N (0,088 $p < 0,01$), destacam-se devido à intensidade do efeito. Já no grupo composto pelas gramíneas (-0,054), não apresentaram diferenças significativas na variável biomassa (Figura 8).

Figura 8: Efeito da aplicação de FMAs multiplicados *On-farm* sobre a biomassa de diferentes grupos funcionais de plantas provenientes de meta-análise da literatura.

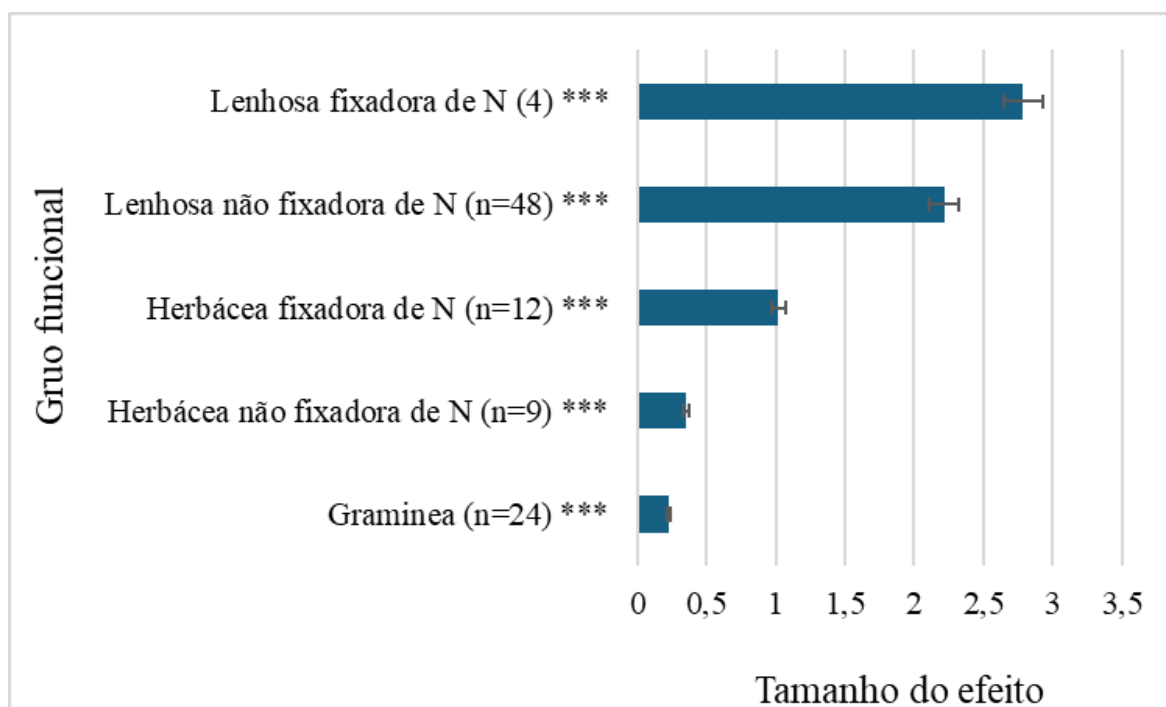


Médias seguidas por * diferem entre si nos seguintes níveis de significância: * < 0,01; ** < 0,001; *** < 0,0001.

Fonte: elaborado pela autora, 2024

A avaliação da influência dos FMAs *On-farm* sobre a capacidade de colonização radicular apresentou um aumento significativo ($p < 0,001$) em todos os grupamentos funcionais elencados: lenhosas fixadoras de N (2,787) ou não fixadoras de N (2,215), herbáceas fixadoras de N (1,021) ou não de N (0,352) e gramíneas (0,226). Apenas diferenças no tamanho do efeito avaliado foram constatadas (Figura 9).

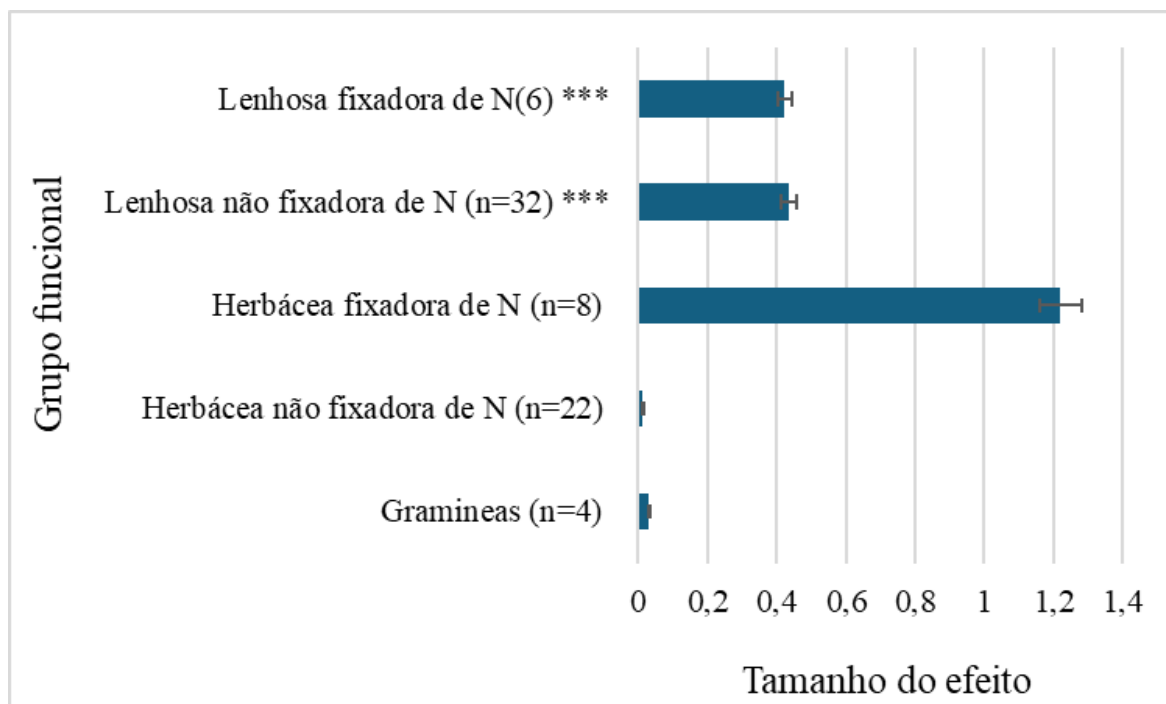
Figura 9: Efeito da aplicação de FMAs multiplicados *On-farm* sobre a taxa de colonização radicular em diferentes grupos funcionais de plantas provenientes de meta-análise da literatura.



Médias seguidas por * diferem entre si nos seguintes níveis de significância: * < 0,01; ** < 0,001; *** < 0,0001.
Fonte: elaborado pela autora, 2024

No caráter concentração de fósforo, por sua vez, efeitos significativos ($p < 0,001$) foram observados em plantas lenhosas fixadoras de N (0,424) e não fixadoras de N (0,436). Os demais grupamentos, herbáceas fixadoras de N (1,22), herbáceas não fixadoras de N (0,014) e gramíneas (0,03) não apresentaram efeitos significativos (Figura 10).

Figura 10: Efeito da aplicação de FMAs multiplicados *On-farm* sobre a absorção de P em diferentes grupos funcionais de plantas provenientes de meta-análise da literatura.



Médias seguidas por * diferem entre si nos seguintes níveis de significância: * < 0,01; ** < 0,001; *** < 0,0001.

Fonte: elaborado pela autora, 2024

Como visto anteriormente, a associação com FMAs é capaz de influenciar positivamente o desenvolvimento de várias espécies vegetais, inclusive em parâmetros agrônômicos e nutricionais como o acúmulo de biomassa e a concentração de fósforo (KOUR *et al.*, 2020). No entanto, a variabilidade genética verificada entre espécies altera significativamente o desempenho das associações, podendo inclusive inibi-las, como ocorre com plantas não micorrízicas. Em outros casos, pode-se verificar divergências tanto relacionadas à capacidade dos FMAs de colonizar o tecido vegetal quanto do desenvolvimento de relações realmente eficientes (DELAVAUX *et al.*, 2017).

Além disso, a resposta das plantas à associação com FMAs apresenta uma ampla variação. Altas taxas de colonização, por exemplo, podem apresentar menor eficiência na promoção de desenvolvimento vegetal do que associações com taxas de colonização mais baixas, mas extremamente eficientes (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Desta forma, a classificação de espécies com base no grupo funcional é mais adequada quando se objetiva a comparação de efeitos relacionados a fatores externos, como a resposta à associação micorrízica (HOEKSEMA *et al.*, 2022). A classificação em grupos

funcionais relaciona as espécies com base em aspectos fisiológicos, morfológicos e adaptativos (história de vida), diferindo da classificação clássica. Isso promove, melhor visualização de características que influenciam a dinâmica das comunidades ecológicas e as interações de coexistência, como a simbiose (ADLER *et al.*, 2022).

Em vista, dos dados apresentados, percebe-se que em todos os trabalhos analisados o desenvolvimento da associação micorrízica, a partir de produção de inóculo *On-farm* apresentaram efeitos positivos sobre os parâmetros avaliados. A variação existente entre os grupos funcionais, apenas ressalta a particularidade de cada interação existente, sendo estas condicionadas tanto pela espécie vegetal de acordo com o histórico evolutivo e adaptação ao ambiente quanto pelas características referentes à espécie de FMA. Além disso, as características relacionadas ao ambiente como clima, solo, entre outros, são capazes de afetar drasticamente todos os aspectos desta associação, podendo tanto impulsioná-las quanto inibi-las. De forma adicional, a utilização da metodologia *On-farm* tem a propensão de impulsionar a multiplicação de propágulos de FMA, principalmente esporos. Desta forma, incorrendo no aumento de inóculo disponível e, conseqüentemente, promovendo uma maior exposição das raízes a esporos viáveis, aumentando significativamente a probabilidade de colonização radicular pelos microrganismos.

Destaca-se, ainda, que a comparação por grupo funcional evidencia a influência benéfica da utilização de inoculação FMAs principalmente em espécies lenhosas. Estudos indicam que este fenômeno ocorre devido a necessidade destas espécies de formarem associações micorrízicas com o objetivo de suprir suas necessidades nutricionais, visto que esses organismos possuem um ciclo de vida muito mais longo que espécies anuais, sendo essencial o desenvolvimento de formas mais eficientes de exploração do solo. Desta forma, a utilização de biofertilizantes contendo propágulos de FMA apresenta-se como uma alternativa interessante tanto para a agricultura quanto no cultivo de espécies a serem utilizadas como ferramentas de remediação em áreas degradadas (GOETTEN *et al.*, 2019).

2.5 CONCLUSÃO

Os dados apresentados evidenciam que o método *On-farm* pode ser utilizado para produção do inóculo de FMAs, sendo estes capazes de promover a colonização radicular mesmo em diferentes grupos funcionais de plantas. Além disso, os efeitos positivos indicam o potencial da associação micorrízica em melhorar características nutricionais e agronômicas.

3. PRODUÇÃO DE BIOFERTILIZANTE COM BIOCHAR E ENRIQUECIDO COM FUNGOS MICORRÍZICOS

3.1 RESUMO

A utilização de resíduos de termelétricas, como o biocarvão, como componente de biofertilizantes, tem se mostrado uma alternativa promissora para a agricultura sustentável, especialmente em combinação com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). Este estudo teve como objetivo avaliar a utilização do biocarvão como componente de substrato para a multiplicação de dois isolados de FMAs (*Acaulospora colombiana* e *Rhizophagus clarus*) em sistema de produção *On-farm*. As hipóteses levantadas foram de que a utilização de biocarvão pode proporcionar um aporte nutricional benéfico para as plantas, mas com potencial de afetar negativamente a capacidade de estabelecimento de associação dos FMAs, e consequentemente seu potencial de micorrização. A metodologia consistiu na realização de dois experimentos: um a campo e outro em casa de vegetação, sendo desenvolvido em delineamento inteiramente casualizado (DIC). Ambos os experimentos utilizaram diferentes concentrações de biocarvão (0%, 10% e 20%) em combinação com inoculação de FMAs, resultando em um esquema fatorial 3x2 (doses de biocarvão e presença, ou não, de inoculação, respectivamente). A colonização radicular e produção de esporos foram as variáveis principais. No experimento a campo, não foram observados efeitos significativos da utilização do resíduo verificando-se, apenas, efeitos do fator inoculação. Além disso, no parâmetro produção de esporos não se observaram diferenças entre os tratamentos. No experimento em casa de vegetação, os tratamentos com 10% e 20% de biocarvão com inoculação de FMAs apresentaram os melhores resultados, destacando-se na colonização radicular e na produção de esporos. Os principais resultados evidenciam que a utilização de biocarvão como componente de biofertilizantes é promissora. De modo semelhante, a realização de inoculação de FMAs favorece as mesmas características quando comparado a atuação apenas de organismos nativos do solo. A combinação de biocarvão e FMAs mostrou-se uma estratégia promissora para a formulação de biofertilizantes eficazes, que podem contribuir para o desenvolvimento sustentável da agricultura. Conclui-se que o biocarvão proveniente de resíduos de termelétricas têm alto potencial como componente de biofertilizantes. Além disso, a inoculação de FMAs pode melhorar a eficácia do biofertilizante, promovendo uma interação simbiótica mais intensa e potencializando os benefícios de micorrizas para as plantas.

3.2 INTRODUÇÃO

A agricultura brasileira, conhecida pela intensa utilização de fertilizantes químicos/minerais, vem passando por alterações causadas pela busca do desenvolvimento de uma agricultura mais sustentável e ecológica. A crescente busca pela utilização de insumos de origem orgânica e biológica, bem como a utilização de microrganismos úteis (fixadores de nitrogênio, solubilizadores de fósforo e potássio) visando promover um maior crescimento e sanidade vegetal, atestam este fato (GRAGEDA-CABREA *et al.*, 2012; BRASIL, 2020).

Os bioinsumos apresentam uma ampla aplicação no cenário agrícola, sendo sua utilização aplicável em várias etapas do desenvolvimento das culturas, seja como controle biológico de pragas e doenças ou como fontes de nutrientes e reguladores do metabolismo vegetal. Neste quesito, os biofertilizantes, categoria abrangida pelos bioinsumos, destaca-se como um recurso à utilização intensiva de fertilizantes químicos durante o cultivo de diferentes espécies (KOUR *et al.*, 2020).

Os biofertilizantes como definido no Decreto nº 4.954, de 14 de janeiro de 2004 (alterando a Lei de fertilizantes nº 6.894 de 1980) caracterizam-se como produtos de origem biológica, compostos por substâncias ou microrganismos vivos, não específicos, capazes de melhorar a disponibilidade de nutrientes para as plantas, estimulando o crescimento e a produtividade de forma sustentável (BRASIL, 2004). A IN 61 de 2020, por sua vez, salienta que estes produtos devem ser livres de substâncias tóxicas e ser capazes de atuar sobre o todo ou parte de plantas cultivadas proporcionando incrementos de produtividade (BRASIL, 2020). Desta forma, dada a definição destes insumos, os componentes se apresentam tanto como uma oportunidade quanto como um ponto de atenção para a sua utilização.

Os biofertilizantes tem como característica essencial a presença de uma substância ou elemento proveniente de um metabolismo vivo, permitindo a utilização inclusive de microrganismos promotores de crescimento. Comumente, encontram-se biofertilizantes formados com a utilização de bactérias benéficas, como fixadoras de nitrogênio ou solubilizadoras de fósforo (SEENIVASAGAN; BABALOLA, 2021). No entanto, um outro grupo de microrganismo, os FMAs, embora pouco explorados, apresentam um grande potencial como componentes destas formulações devido à durabilidade de seus propágulos e os benefícios ao qual os cultivos estão sujeitos quando de sua presença.

Os fungos micorrízicos arbusculares caracterizam-se como microrganismos biotróficos, de ampla ocorrência e reconhecidos pela capacidade de promover a colonização

do tecido do córtex das raízes, causando modificações na membrana plasmática das células (CARDOSO; ANDREOTE, 2016; SAMPAIO, *et al.*, 2012). O estabelecimento de uma íntima relação permite a troca de recursos entre os organismos, sendo que as plantas fornecem fotoassimilados ao metabolismo fúngico e os FMAs em troca, disponibilizam nutrientes e água. Nas micorrizas hifas são estruturas tanto interna quanto externamente à epiderme da raiz que atuam como extensores do sistema radicular, promovendo a obtenção de um maior aporte hídrico e nutricional, principalmente de elementos pouco móveis no solo, bem como aumenta a resistência da planta durante eventos climáticos intensos (estresses abióticos) (BERBARA *et al.*, 2006; STOFFEL *et al.*, 2020).

Entre os benefícios provenientes da simbiose FMA/planta ressalta-se o maior aporte nutricional, principalmente de fósforo, provenientes do maior volume de solo explorado pelas hifas. O maior comprimento e menor espessura dessas estruturas quando em comparação com as raízes, permitem o acesso a esse elemento pouco móvel no solo e facilmente imobilizado, assim como a reservas hídricas menos acessíveis (CARDOSO; ANDREOTE, 2016). Além disso, o estabelecimento desta relação proporciona uma série de alterações metabólicas que atuam, junto à melhor nutrição, como promotores de uma maior sanidade vegetal, proporcionando, inclusive, reações mais brandas a manifestações de doenças (DALLA COSTA, 2010). Outro efeito positivo da presença de FMAs em simbiose consiste na capacidade de desenvolver relações de competição diretas com outros organismos do solo, como os patógenos. Deste modo, ao colonizar o tecido radicular, os FMAs ocupam sítios de infecção, impedindo sua ocupação por organismos promotores de doenças, alterando as reações metabólicas na planta, tornando-as menos suscetíveis a infecções por organismos danosos (SAMPALIO *et al.*, 2012). Além disso, atuam indiretamente, através da seleção da microbiota desenvolvida na porção de solo próxima à raiz (rizosfera) e em torno das próprias estruturas fúngicas (micorrizosfera) (LINDERMAN, 1988).

Os propágulos de FMAs, no entanto, isoladamente não compõem um biofertilizante, pois necessitam de um elemento ou substrato capaz de atuar tanto como substrato para a multiplicação destes organismos quanto como veículo para sua destinação final. Assim, outra característica dos biofertilizantes pode ser destacada: a possibilidade de utilização de resíduos industriais.

As atividades industriais, naturalmente, acarretam na produção de subprodutos ou resíduos que não possuem uma finalidade comercial, sendo muitas vezes destinados a

descarte em aterros (SOUZA *et al.*, 2012). No entanto, muitos desses subprodutos possuem características passíveis de aproveitamento na agricultura, como alto potencial tamponante (capaz de alterar o pH) ou altas concentrações de nutrientes como nitrogênio, fósforo, potássio (macronutrientes) e micronutrientes. Além disso, podem promover alterações nas características físicas de interesse no solo, como aumento da retenção de água e porosidade, provenientes da natureza do material que os compõem (CZERNIAK; STURMER, 2014). Neste âmbito, os resíduos da indústria de geração de energia a base de queima (termelétricas) também chamados de biocarvão ou biochar apresentam-se como potenciais componentes destes bioinsumos. Lehmann e Joseph (2009) descrevem estes resíduos com substâncias provenientes da decomposição térmica de material orgânico. Neste processo a matéria prima original passa por uma série de alterações que promovem o rearranjo dos átomos de carbono, melhorando suas qualidades químicas, especialmente aumentando a superfície de contato.

Essa característica dos biocarvões, segundo Douds Jr. *et al.* (2014) atua beneficiando o carregamento de esporos de FMA. Segundo este autor, mesmo sem a comprovação de infectividade dos grânulos de biocarvão por FMA, apenas 0,1g foram capazes de promover colonização radicular em plantas testes, comprovando sua capacidade de atuar como veículo destes microrganismos, sendo também capazes de promover a adsorção de nutrientes (ATKINSON, *et al.*, 2010). Além disso, os biocarvões caracterizam-se por possuírem altas concentrações de fósforo, potássio e outros elementos em formas mais solúveis do que na matéria prima (SOHI *et al.*, 2010). Trazzi *et al.* (2018) em uma abordagem geral, permitem a visualização do potencial de utilização de resíduos como o biocarvão na agricultura, bem como dos benefícios nutricionais e da melhoria das características físico-químicas dos solos advindos de sua utilização.

No entanto, a utilização destes recursos apresenta algumas ressalvas, principalmente quando se objetiva a multiplicação de microrganismos. As alterações que descaracterizem as matérias primas quando aplicadas em solos ou substratos contendo FMAs podem impactar a capacidade de multiplicação (produção de esporos) e colonização radicular, dado a abundância de elementos na composição, como o fósforo, tornando as plantas menos receptivas ao estabelecimento das relações simbióticas com estes microrganismos (WARNOCK *et al.*, 2007).

Biofertilizantes, incluindo as formulações contendo FMAs e resíduos industriais, apresentam como outra vantagem de utilização, a possibilidade de produção por meio de métodos *On-farm*.

O método *On-farm*, caracteriza-se por permitir a confecção de produtos de origem orgânica ou biológica no próprio local de destino, ou seja, propriedades agrícolas, isentando-os da possibilidade de comercialização. Sua utilização, no entanto, encontra-se atrelada ao cumprimento das normas técnicas pertinentes e com o acompanhamento de um profissional responsável habilitado. Desta forma, a aplicação destas metodologias encontra-se regulamentada, no Brasil, pelo Decreto nº 6.913 de 2019 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (CARRARO et al., 2022).

Nesta metodologia, um substrato (estéril ou não) de composição variável (areia, solo, resíduos orgânicos, entre outros) é empregado como depósito e veículo de propágulos de microrganismos específicos ou não, cuja utilização proporciona incrementos em parâmetros que afetam o desenvolvimento de culturas, como biomassa, altura de plantas e produtividade. Em casos de multiplicação de organismos biotróficos, tem-se a utilização de um hospedeiro vivo (plantas de várias espécies) como mediador para a formação do biofertilizante (CZERNIAK; STÜRMER, 2014).

Fertilizantes biológicos confeccionados através de metodologias *On-farm* vem apresentando efeitos positivos quando utilizados em diferentes espécies vegetais com destaque para as últimas décadas. Validam esse fato pesquisas como as desenvolvidas por Sieverding (1997 e 1981). Doude Jr. e colaboradores a partir dos anos 2000, utilizando diferentes culturas expostas a biofertilizantes a base de FMAs, Czarniak e Sturmer (2014) atrelando a utilização de resíduos da indústria de madeira e a utilização de FMAs, Mohandas (2015) através da aplicação destes compostos em cultivos de *Carica papaya*, entre outros. Além disso, a realização de meta-análises como no capítulo anterior através síntese de resultados evidenciam os efeitos benéficos da utilização de biofertilizantes contendo FMAs.

Deste modo, dado o cenário atual e a busca por soluções agrícolas mais sustentáveis, a incorporação de resíduos industriais ao substrato de biofertilizantes micorrizados apresenta-se como uma abordagem promissora para o desenvolvimento de produtos que ampliem a eficiência do uso de nutrientes e beneficiem a sanidade das plantas. Os FMAs, quando aplicados com um substrato enriquecido por resíduos de termelétrica, não só tendem a favorecer o aproveitamento de nutrientes essenciais, como fósforo e potássio, mas também incrementam a resistência das plantas a condições adversas, estabelecendo uma simbiose que promove um crescimento mais vigoroso e uma melhor adaptação às variações do solo (DOUDS Jr. et al., 2014).

A incorporação de resíduos industriais, como biocarvão, na formulação de biofertilizantes à base de FMAs representa uma abordagem inovadora e promissora para a agricultura sustentável. Ao aproveitar-se o potencial dos FMAs e dos resíduos, não apenas se promove a melhoria da disponibilidade de nutrientes essenciais, como fósforo e potássio, mas também contribui-se para a promoção de maior sanidade e adaptação a condições ambientais adversas das plantas. Além disso, essa prática oferece uma alternativa viável para a redução da dependência de fertilizantes químicos, promovendo um ciclo agrícola mais eficiente e ecologicamente responsável. Contudo, é crucial que estudos adicionais sejam realizados para superar os desafios relacionados à interação entre os resíduos industriais e a multiplicação dos microrganismos, garantindo a máxima eficácia desses biofertilizantes. Assim, a combinação de práticas agrícolas inovadoras e o reaproveitamento de resíduos industriais podem contribuir se consolidar como pilares de um modelo de agricultura cada vez mais sustentável e eficiente.

Deste modo, este capítulo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a utilização do biocarvão como componente de substrato para a multiplicação de dois isolados de FMAs (*Acaulospora colombiana* e *Rhizophagus clarus*) em sistema de produção *On-farm*.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.3.1 Multiplicação do inóculo.

Para a realização deste estudo utilizou-se duas espécies de FMAs nativos dos solos brasileiros (*Acaulospora colombiana* e *Rhizophagus clarus*), sendo necessário, como primeira etapa do estudo, a multiplicação do inóculo.

Inóculos contendo propágulos das duas espécies isoladas de FMA provenientes do acervo da Coleção Internacional de Culturas de Glomeromycotas (CICG na FURB, Blumenau-SC- <http://www.furb.br/cicg>) foram multiplicados em substrato estéril composto por vermiculita e areia (1:1) em tubetes de 270 mL. Utilizou-se como planta hospedeira a espécie *Sorghum bicolor*, através da inserção de sementes pré-germinadas em BOD (25° C por 8 dias). Após, as plantas foram mantidas em sala de crescimento pelo período de quatro meses, realizando-se regas manuais com água deionizada. Além disso, realizou-se duas aplicações de solução Long-Ashton (BRUNETT; MELVILLE; PETERSON, 1994) visando sanar as necessidades nutricionais da cultura.

Durante o último mês da multiplicação, cessou-se a irrigação, visando promover-se sintomas de estresse no cultivo com o intuito de intensificar a esporulação dos FMAs. Posteriormente, realizou-se a retirada do substrato, sendo este o inóculo (composto por esporos, raízes colonizadas, fragmentos de hifas) utilizado nos experimentos.

3.3.2 Definição das concentrações do resíduo

Em paralelo à multiplicação dos inóculos realizou-se a definição prévia das concentrações do resíduo a serem utilizadas nos experimentos. Para isto, efetuou-se um ensaio com diferentes concentrações do biocarvão incorporado ao solo (não esterilizado) em tubetes de 270 mL. As concentrações utilizadas foram 5%, 10%, 20% e 40% de biocarvão com a realização de inoculação em metade dos recipientes de 10 g de uma mistura de propágulos de FMAs das espécies *Acaulospora colombiana* e *Rhizophagus clarus*. Plantas de *Sorghum bicolor* serviram como hospedeiro vivo. O experimento foi desenvolvido seguindo o delineamento inteiramente casualizado com arranjo fatorial 4x2, sendo o primeiro fator a concentração de biocarvão e o segundo a presença ou não de inoculação com FMAs. Assim, os tratamentos que compunham este teste foram: T1: 5% do biocarvão sem inoculação; T2 5% do biocarvão com inoculação; T3: 10% de biocarvão sem inoculação; T4: 10% de biocarvão com inoculação; T5: 20% de biocarvão sem inoculação; T6: 20% de biocarvão com inoculação; T7: 40% de biocarvão sem inoculação; T8: 40% de biocarvão com inoculação. Contando com três repetições por tratamento. As plantas foram mantidas em sala de crescimento a 25 °C por quatro meses com subsequente coleta das raízes e substrato, sendo realizado a verificação da colonização radicular e da produção de esporos.

Como resultados deste ensaio, definiu-se que as concentrações de biocarvão a serem utilizadas seriam 10 e 20% de biocarvão. Em vista de que, nestas concentrações, obteve-se taxas de colonização radicular e produção de esporos superiores a 50% e próximo a 100 esporos/ 50 g de solo, respectivamente.

Tabela 2: Taxa de colonização radicular, produção de esporos e biomassa obtidos em ensaio preliminar para definição das doses de biocarvão a serem utilizadas em conjunto com a inoculação de FMAs na composição de um biofertilizante.

Número de esporos em 50g , colonização radicular(%) e biomassa seca (g) de plantas de sorgo								
	+FMA				-FMA			
	5%	10%	20%	40%	5%	10%	20%	40%
° de esporos em 50g	117	37	70	47	45	25	45	3
Col. Radicular (%)	84	85	82	95	32	40	52	59
Biomassa (g)	0,172	0,570	0,59	0,886	0,213	0,338	0,402	1,168

Fonte: elaborado pela própria autora (2024).

3.3.3 Formulação do Substrato

A formulação do substrato contou com a utilização de solo peneirado, não estéril, e serragem na proporção 2:1 (v/v). Nesta mistura foram adicionadas as concentrações de resíduo de termelétrica (biocarvão) conforme cada tratamento: 0%, 10% e 20%. Os atributos físico e químicos dos componentes do substrato foram previamente caracterizadas, principalmente macronutrientes como fósforo, potássio e nitrogênio para o solo (Tabela 3) e para o resíduo de termelétrica (Tabela 4).

Tabela 3: Caracterização físico-química do solo.

Caracterização físico-química do solo						
Ph	Ca	Mg	Al	CTC efetiva	CTC Ph7	H+Al
	(%)	(%)	cmolc/dm ³	mmolc/dm ³	(cmolc/dm ³)	mmolc/dm ³)
5,09	25,74	23,29	0,59	9,93	17,40	7,70
SMP	Saturação Al	Bases	M.O	C.O	P	K
	(%)	(%)	(%)	(%)	(mg/dm ³)	(mg/dm ³)
5,75	4	50,82	2,5	1,45	5,0	83

Fonte: elaborado pelo autor, 2024

Tabela 4: Caracterização química do biocarvão.

Caracterização química do resíduo de termelétrica				
pH	Ca	Mg	P	K
	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)
8,47	1629,321	449,753	224,877	953,312

Fonte: elaborado pela autora, 2024

3.3.4 Procedimento experimental

O desenvolvimento deste trabalho contou com a realização de um experimento realizado a campo e um segundo experimento, realizado em casa de vegetação.

3.3.4.1 Experimento a campo

a) Hospedeiro vegetal

Inicialmente, sementes da espécie *Sorghum bicolor* foram pré-germinadas em incubadora BOD por 4-5 dias a 25°C e, posteriormente, transferidas para tubetes de 270 mL

contendo uma mistura de solo e areia (1:1, v/v) esterilizadas por autoclavagem. Nas plantas utilizadas para compor os tratamentos com inoculação por FMA foram adicionados, no sulco de deposição da plântula, 10 g do inóculo de *Acaulospora colombiana* proveniente da multiplicação (item 3.3.1). As plantas foram mantidas em casa de vegetação, localizada no Instituto Federal de Santa Catarina (IFSC) Câmpus Lages, durante 30 dias, sendo posteriormente transferidas para os vasos durante o mês de março de 2024, conforme o tratamento utilizado.

Após 60 dias, visto a apresentação de sintomas de estresse por frio nas plantas de sorgo, realizou-se a semeadura de dez sementes de *Avena sativa* por vaso, de modo a proporcionar a permanência de um hospedeiro vivo durante todo o ciclo de multiplicação dos FMAs.

b) Delineamento e desenvolvimento experimental

O experimento foi desenvolvido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), seguindo o arranjo fatorial 2 x 3, sendo o primeiro fator a utilização de plantas pré-inoculadas ou não com FMA e, como segundo fator, diferentes concentrações do resíduo (0%, 10% e 20%). Portanto os tratamentos foram compostos por: T1: 0% do resíduo sem inoculação; T2: 0% do resíduo com inoculação; T3: 10% do resíduo sem inoculação; T4: 10% do resíduo com inoculação; T5: 20% do resíduo sem inoculação e T6: 20% do resíduo com inoculação.

Deste modo, vasos de 20 L foram preenchidos com o substrato composto por solo e serragem (2:1, v/v) com as adições do resíduo de termelétrica, conforme o tratamento. Neste recipientes foram inseridas três mudas por vaso de plantas de *Sorghum bicolor* pré-inoculadas com a espécie de FMA *Acaulospora colombiana* (Figura 11). Os vasos foram acondicionados sobre superfície impermeável por quatro meses. (Figura 12).

Figura 11: Disposição de sulcos no vaso de plantio de de *Sorghum bicolor*.



Fonte: PRIMIERI, 2024

Figura 12: Disposição do experimento sobre superfície impermeável



Fonte: PRIMIERI, 2024

3.3.4.2 Experimento em casa de vegetação

a) Delineamento e desenvolvimento experimental

O segundo experimento foi realizado em casa de vegetação localizada na Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI). O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial 2 x 3, com o primeiro fator

referindo-se a presença ou não de inoculação e o segundo, a adição ao substrato padrão (não estéril) de diferentes dose dos resíduo de termelétrica (0%, 10% e 20%). Assim, foram compostos os seguintes tratamentos: T1: 0% do resíduo sem inoculação; T2: 0% do resíduo com inoculação; T3: 10% do resíduo sem inoculação; T4: 10% do resíduo com inoculação; T5: 20% do resíduo sem inoculação e T6: 20% do resíduo com inoculação (previamente definidas pelos critérios já descritos no item 3.3.3.1)

A condução deste experimento foi realizada em vasos de 1,6 L, nos quais foram adicionados o substrato contendo a mistura de solo e serragem (2:1, v/v) e a dose de resíduo, conforme o tratamento. Como hospedeiro vegetal utilizou-se *Avena sativa* através do cultivo de duas plantas por vaso. Durante a semeadura, realizou-se a inoculação da espécie de FMA *Rhizophagus clarus*, mediante a deposição de 20 g inóculo (mistura de hifas, esporos e fragmentos de raízes colonizadas) no sulco de deposição das sementes. A plantas foram cultivadas em casa de vegetação por 4 meses.

3.3.4.3 Coleta e avaliação dos experimentos

A coleta de ambos os experimentos ocorreu de maneira semelhante, após o período considerado necessário para a multiplicação dos FMAs (4 meses). Raízes de *Avena sativa*, foram separadas e armazenadas em álcool 70% para posterior avaliação da taxa de colonização radicular.

A colonização micorrízica foi avaliada através do método de intersecção de linhas em microscopia descrito por Giovannetti e Mosse (1980). O procedimento consiste na despigmentação das raízes e posterior coloração das estruturas fúngicas através de exposição a corantes básicos (azul de tripano, por exemplo), possibilitando a diferenciação das estruturas e sua contagem com o auxílio de microscópio óptico.

A verificação da quantidade de esporos foi realizada através da retirada de uma amostra do substrato total do recipiente, sendo retirado uma faixa de cerca de 5 cm localizada no centro do vaso, abrangendo todas as camadas (0-10;10-20;20-30 cm), com o intuito de adquirir-se uma amostra representativa do substrato. Posteriormente, realizou-se a extração dos esporos através do método de peneiragem úmida de Gerdemann e Nicolson (1963) com posterior contagem dos esporos em estereomicroscópio (lupa).

3.3.5 Análise estatística

A análise estatística foi realizada com o auxílio do programa Minitab Statistical Software 22 (MINITAB INC., 2022)

Os dados experimentais foram submetidos à análise de normalidade de Shapiro-Wilk, apresentando comportamento normal para todos os parâmetros avaliados nos dois experimentos, com exceção para o número de esporos do experimento a campo que foram testados pelo teste de Anderson-Darling. Posteriormente, os dados foram submetidos ao teste de comparação de médias de Tukey ($p < 0,05$).

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.

A incorporação do resíduo de termelétrica como componente do biofertilizante proporcionou a elevação do pH original do solo de 5,09 para 5,73 e 6,20 na presença de 10% de biocarvão e para 6,12 e 6,56 com 20% de biocarvão, correspondendo um incremento de 10 e 20% independente da localização do experimento (a campo ou casa de vegetação) desenvolvendo uma relação positiva com o aumento da concentração utilizada (Tabela 4). A saturação por bases e a concentração de cálcio (%) no solo apresentaram comportamento semelhante. Além disso, a concentração de magnésio não apresentou alterações visíveis no experimento a campo.

Destaca-se a influência da utilização do biocarvão quanto ao incremento no teor de fósforo presente nas misturas. Como visto na Tabela 4, a aplicação de 10% do resíduo elevou a concentração de fósforo de 5 para aproximadamente 45 mg/dm³ (cerca de 9 vezes a concentração inicial). Enquanto a aplicação de 20% do resíduo praticamente dobrou esses efeitos, independente do ambiente de realização do experimento.

Tabela 5: Caracterização química dos tratamentos de misturas de solo e biocarvão utilizados nos experimentos a campo e em casa de vegetação.

Caracterização das misturas utilizadas nos experimentos					
Experimento	Campo			Casa de vegetação	
Concentração de resíduo	0%	10%	20%	10%	20%
pH	5,09	5,73	6,12	6,20	6,56
SMP	5,75	6,30	6,57	6,37	6,63
	-----%				
Bases	50,82	68,81	77,99	74,63	79,39
Al	4	0	0	0	0
Ca	25,74	37,60	45,11	39,02	42,04
Mg	23,29	23,89	23,52	29,16	27,96
	-----mg/dm ³ -----				
K	83	284	378	284	378
P	5,0	44,8	>80,0	46,6	>80,0

Fonte: elaborado pela autora, 2024

As transformações ocorridas nos materiais orgânicos durante o processo de pirólise atuam descaracterizando-os e modificando as características originais, inclusive intensificando aspectos de composição. Durante a queima, a elevação da temperatura altera as cadeias carbônicas, promovendo a eliminação de componentes através da volatilização (LEHMANN; JOSEPH, 2009). Bem como, aumento da concentração de elementos mais estáveis (que não volatilizam) como, por exemplo, o fósforo e o potássio em formas mais solúveis que as originais (SOHI *et al.*, 2010; CZARNIAK; STÜRMER, 2014). Além disso, pode elevar a concentração de elementos, como cálcio e magnésio, historicamente utilizados como corretivos do solo para elevação de pH a níveis mais adequados aos cultivos. A característica marcante dos biocarvões de possuírem uma maior área superficial do que as partículas de solo, fazem com que o mesmo atue como elemento tamponante. Isso ocorre porque a maior área de contato presente nas partículas de biocarvão permite a maior adsorção de elementos, acarretando em liberação dos sítios de ligação naturalmente presentes no solo (ATKINSON *et al.*, 2010).

Essas particularidades dos biocarvões tornam interessante sua utilização como insumo agrícola, visto sua capacidade de modificar as qualidades físico-químicas dos solos. Sendo, desta forma, capazes de beneficiar os cultivos.

No entanto, quando este tipo de material é utilizado em conjunto com outros elementos como, por exemplo, componente de biofertilizantes necessita-se de uma atenção especial, pois estes mesmos atributos que favorecem o desenvolvimento vegetal podem interferir significativamente no desenvolvimento de microrganismo de interesse, principalmente no caso de FMAs.

Como exposto anteriormente, a formação de associações micorrízicas, além de ser dependente das particularidades dos simbiontes, é altamente influenciada pelas condições ambientais. Um dos principais mediadores e reguladores de estabelecimento de simbiose funcional é a concentração de fósforo disponível e capaz de ser absorvida pelo sistema radicular das espécies vegetais (DOUDS Jr. *et al.*, 2006). Desta forma, a utilização de resíduos industriais que contenham na composição altas concentrações de nutrientes, embora benéficos do ponto de vista vegetal, pode afetar negativamente associações entre microrganismos e plantas, principalmente de fungos micorrízicos tanto por impactarem na produção de esporos e capacidade de colonização radicular quanto por tornarem as plantas menos receptivas a associação (WARNOCK *et al.*, 2007).

Todavia, cabe-se ressaltar, que muitas vezes os impactos causados no metabolismo dos microrganismos não estão ligados à presença do resíduo, e sim, à concentração de elementos durante a utilização. Desta forma, a definição de uma dose adequada que consiga estabelecer um equilíbrio entre o aporte nutricional e o desenvolvimento dos FMAs, sem a ocorrência de efeitos negativos, é essencial para o emprego como carreador de estruturas reprodutivas dos fungos. Em consequência, é fundamental para o desenvolvimento de um biofertilizante realmente eficiente.

a) Colonização micorrízica

A avaliação colonização radicular no experimento a campo demonstrou que os tratamento com 0 e 10% de resíduo, quando as plantas foram inoculadas com FMA apresentam um desempenho superior aos demais, desenvolvendo taxas de colonização cerca de 20% maiores que os controles sem inoculação e com mesmo teor de resíduo (Tabela 6).

Os tratamentos do experimento a campo sem inoculação dos FMAs, por sua vez, apresentaram colonização micorrízica 10 a 20% inferiores aos demais tratamentos,

independentemente da concentração de resíduo utilizada. O tratamento com 20% de biocarvão não apresentou diferença quando comparado ao controle não inoculado. Deste modo, demonstra influência mais efetiva da presença do fator inoculação do que da concentração do resíduo sobre a colonização radicular (Tabela 6).

Diferente do experimento a campo, a colonização radicular das plantas cultivadas em casa de vegetação não foi significativamente afetada pelo fator inoculação, e sim, pela concentração do resíduo. Nos tratamentos 20% e 10% de resíduo com inoculação de FMAs e no tratamento 20% de resíduo sem inoculação, a colonização foi de 5 a 10%, maiores que os demais tratamentos. Em contrapartida, o tratamento com 0% do resíduo sem inoculação de FMAs apresentou o pior resultado (Tabela 7).

Tabela 6: Colonização micorrízica de aveia-branca inoculada com FMAs *Acaulospora colombiana* cultivada a campo em mistura composta por solo e biocarvão nas concentrações de 0, 10 e 20%.

Colonização Micorrízica (%) a Campo			
Doses de Biocarvão	+ FMA	- FMA	médias
0%	46,0 %	24,3%	35,1 % A
10%	44,3 %	25,5 %	34,9 % A
20%	32,2 %	23,9 %	28,0 % A
Médias	40,8 % a	24,5 % b	

Médias seguidas por letras diferentes, em cada experimento, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: elaborado pela autora, 2024

Tabela 7: Colonização micorrízica de aveia-branca inoculada com FMAs *Rhizophagus clarus* cultivada em casa de vegetação em mistura composta por solo e biocarvão nas concentrações de 0, 10 e 20%.

Colonização Micorrízica (%) em Casa de Vegetação			
Doses de Biocarvão	+ FMA	- FMA	médias
0%	17,4 %	13,7%	15,5 % B
10%	26,0 %	19,3 %	22,6 % A
20%	26,3 %	24,0 %	25,1 % A
médias	23,2 % a	19,0 % b	

Médias seguidas por letras diferentes, em cada experimento, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: elaborado pela autora, 2024

Diversos autores relacionam a ocorrência de variações entre as taxas de colonização às particularidades do substrato, ambiente e dos próprios simbiontes presentes durante o estabelecimento das micorrizas. Estas associações são descritas como dependente da receptividade a planta hospedeira a associação, sendo ela mediada pelas condições de disponibilidade de nutrientes no solo, por exemplo. Desta forma, quando a presença de fósforo disponível é baixa as plantas tornam-se mais receptivas para a formação de associações micorrízicas (ROSA *et al.*, 2024).

O resíduo gerado pela termelétricas e usado neste trabalho apresenta uma alta concentração de fósforo em sua composição original. Assim, o uso em mistura para a formulação de substrato, ao mesmo tempo que permite o aproveitamento do aporte nutricional fornecido por este recurso, incute preocupações sobre seus efeitos sobre a microbiota. O exposto por Sohi *et al.* (2010) e Atkinson *et al.* (2010) demonstra ser uma característica marcante dos biocarvões a quantidade de nutrientes na composição e a capacidade de adsorção de outros elementos. Tais particularidades impulsionam a utilização como componente de fertilizantes. Desta forma, como exposto pelos estudos de Warnock *et al.* (2007) esta intensa concentração de nutrientes pode afetar negativamente a colonização micorrízica e produção de esporos e consequentemente o desenvolvimento e eficiência das associações micorrízicas.

No entanto, mediante a análise individual de cada experimento percebe-se a verificação de resultados contrários à literatura precedente. De modo que, a realização deste trabalho não proporcionou a visualização de efeitos negativos significativos da utilização de biocarvão sobre a multiplicação dos FMAs testados. Além disso, o experimento em casa de vegetação, por sua vez, apresentou médias cerca de 10% maiores nos tratamentos com utilização de 10 e 20% do biocarvão em comparação com o controle.

Nestes casos, aponta-se que tendência ao desenvolvimento de taxas de colonização maiores, mesmo em ambientes com altas concentrações de fósforo, podem ser relacionadas às características deste nutriente. Embora presente em altas concentrações, muitas vezes, o fósforo assume formas insolúveis e, desta forma, inacessíveis a absorção pelas raízes das plantas. Esse fator pode atuar favorecendo a interação das espécies vegetais com outros organismos, detentores de estratégias mais favoráveis à aquisição deste nutriente ou com maior capacidade de exploração do solo em busca deste recurso, como ocorre com os FMAs (VILAR; VILAR, 2013).

b) Produção de esporos

A produção de esporos de *A. colombiana* no experimento a campo não apresentou diferenças entre os tratamentos (Tabela 8).

Para o experimento desenvolvido em casa de vegetação, constatou-se que os tratamentos com utilização de 10 e 20% do resíduo com inoculação de *R. clarus* apresentaram desempenho superior aos demais tratamentos. No entanto, não diferiram entre si com médias iguais a 86,3 e 88,9 esporos/50g de solo, respectivamente.

Nos tratamentos com 0% de adição do biocarvão, independente da realização de inoculação com isolados de FMA foram observados, além das menores taxas de colonização radicular (<20%), menor produção de esporos (< 45 esporos/ 50 g de solo). Os tratamentos com 10 e 20% de biocarvão e sem inoculação não diferiram dos demais tratamentos.

Colonização micorrízica de aveia-branca inoculada com FMAs *Acaulospora colombiana* ou *Rhizophagus clarus* e cultivada a campo ou em casa de vegetação, respectivamente em solo contendo concentração de 0, 10 e 20% de biocarvão.

Tabela 8: Número de esporos em 50 g de substrato contendo FMAs *Acaulospora colombiana* cultivada em vasos a campo em mistura composta por solo e biocarvão nas concentrações de 0, 10 e 20%.

Número de Esporos (um/50g de solo) a Campo			
Doses de Biocarvão	+ FMA	- FMA	Médias
0%	60,9	51,9	56,4 A
10%	78,3	55,3	66,8 A
20%	55,1	48,9	52,0 A
médias	64,7 a	50,0 a	

.Médias seguidas por letras diferentes, em cada experimento, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: elaborado pela autora, 2024

Tabela 9: Número de esporos em 50 g de substrato contendo FMAs *Rhizophagus clarus* cultivada em casa de vegetação em mistura composta por solo e biocarvão nas concentrações de 0, 10 e 20%.

Número de Esporos (um/50g de solo) em Casa de Vegetação			
Doses de Biocarvão	+ FMA	- FMA	Médias
0%	40,4	41,1	40,7 B
10%	86,3	62,5	74,4 A
20%	88,9	70,9	79,9 A
Médias	71,8 a	58,1 a	

.Médias seguidas por letras diferentes, em cada experimento, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: elaborado pela autora, 2024

A comparação dos efeitos dos tratamentos em cada experimento pode ser atribuído a alguns fatores. O primeiro aspecto refere-se ao possível estabelecimento de relações de

competição entre os organismos nativos do solo e os propágulos de cada espécie isolada e inoculada (*A. colombiana* e *R. clarus*), visto a utilização de solo não estéril como componente do substrato de multiplicação. Este tipo de interação entre os organismos indígenas e os inoculados pode impactar o desempenho de ambos, incluindo a simbiose entre FMAs e plantas. Isto ocorre, devido à possibilidade dos FMAs indígenas estarem mais adaptados ao solo empregado no experimento.

No entanto, muitas vezes, estes organismos indígenas apresentam uma menor capacidade de desempenho do que os inoculados. Deste modo, incutindo em proporção de ocupação maior dos sítios de infecção por organismos menos eficientes que os isolados, podendo, assim, mascarar o desempenho das espécies inoculadas (TRABELSI; MHAMDI, 2013).

Outra questão consiste na possibilidade do incremento de biocarvão ter impactado de forma semelhante as duas comunidades (isoladas e inoculadas) impedindo a percepção de divergências quanto a capacidade de produção de esporos. Como demonstrado por Warnock *et al.* (2007) e constatado neste trabalho, a composição dos biocarvões apresentam altas concentrações de nutrientes, principalmente fósforo. Este elemento, por sua vez, principalmente sua indisponibilidade atua como o principal mediador do estabelecimento das micorrizas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Por fim, ao comparar-se as diferenças entre os experimentos percebe-se a possível influência da espécie de FMA utilizada, visto a utilização de *Acaulospora colombiana* no experimento a campo e *Rhizophagus clarus* em casa de vegetação. Deve-se considerar que o ambiente pode ter interagido sobre os fatores testados.

Sabe-se que um ambiente protegido proporciona um melhor controle sobre as condições ambientais como temperatura, umidade e luz. Estes fatores são capazes de afetar drasticamente tanto o metabolismo vegetal quanto fúngico, além de mediar o próprio estabelecimento da relação simbiótica devido ao controle estabelecido sobre as condições ambientais, principalmente a irrigação, quando comparado o plantio a campo. A implantação de cultivos a campo submete-os a exposição às condições climáticas variáveis, que nem sempre são adequadas à cultura ou a associação micorrízica. Como visto em Cavalcante *et al.* (2001) um acesso mais restrito a elementos essenciais ao desenvolvimento vegetal (recursos hídricos, por exemplo), como ocorre durante estresses, geralmente, tende a aumentar a afinidade das plantas pela simbiose, tornando-as mais efetivas. Deste modo, ambientes onde o controle das condições climáticas é dificultoso, acabam por modular a

resposta dos microrganismos. Enquanto ambientes mais controlados, permitem a expressão destas de forma mais acentuada.

Fatores ambientais, como a umidade do solo, também desempenham um papel crucial na colonização radicular e na esporulação dos FMAs. Em um estudo desenvolvido por Pereira *et al.* (2022) com *Paepalanthus* sp., observou-se que diferentes níveis de umidade do solo influenciaram a colonização micorrízica, embora a esporulação não tenha sido afetada significativamente. Além disso, a espécie de FMAs utilizada pode influenciar significativamente a colonização radicular e a produção de esporos nas plantas hospedeiras. Diferentes espécies de FMAs variam em sua capacidade de colonizar raízes e promover esporulação, afetando a eficiência da simbiose micorrízica. Por exemplo, o estudo de Gomide *et al.* (2009) avaliou o efeito de diferentes espécies vegetais no pré-cultivo sobre a esporulação, colonização e crescimento da braquiária cultivada em sucessão, demonstrando que a escolha do FMA, bem como da planta hospedeira impacta diretamente esses parâmetros

Mediante a análise individual de cada experimento percebe-se a verificação de resultados contrários à literatura precedente. De modo que, a realização deste trabalho não proporcionou a visualização de efeitos negativos da utilização de biocarvão sobre os FMAs no experimento realizado a campo em nenhuma das variáveis (colonização e produção de esporos). Além disso, o experimento em casa de vegetação, por sua vez, apresentou médias cerca de 10% maiores nos tratamentos com utilização de 10 e 20% de resíduo em comparação com os controles (sem resíduo).

3.5 CONCLUSÃO

A concentração de biocarvão associada a inoculação de FMAs não apresentam efeitos negativos sobre a colonização radicular e parecem não afetar negativamente a produção de esporos dos FMAs *Acaulospora colombiana* e *Rhizophagus clarus*.

A inoculação de isolados de FMAs é capaz de proporcionar taxas maiores de colonização radicular e de produção de esporos que da população autóctone de FMAs no solo.

A utilização da metodologia *On-farm* para obtenção de biofertilizantes contendo FMA pode ser viabilizada uma vez atendendo-se cuidados com a concentração de biocarvão na mistura de cultivo.

Em resumo, a combinação de FMAs e biocarvão apresenta grande potencial como ferramenta para a agricultura sustentável, promovendo um sistema agrícola mais resiliente, eficiente e alinhado às demandas ambientais atuais.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento de biofertilizantes à base de biocarvão proveniente de resíduos industriais e enriquecido com FMAs representa uma alternativa viável e promissora para promover a sustentabilidade na agricultura. Os resultados obtidos demonstram que a integração desses componentes é viável para o carregamento destes microrganismos, bem como para promover modificações benéficas sobre as características químicas do solo. No entanto, outras análises são necessárias para verificar tanto a viabilidade do biofertilizante, principalmente quanto a capacidade do inóculo de promover simbioses efetivas futuramente, quanto aos seus efeitos sobre o desenvolvimento de diferentes cultivos.

Apesar das vantagens observadas, a aplicação de biocarvão requer mais estudos sobre as concentrações a serem utilizadas. De modo, a evitar-se a inibição da colonização radicular devido ao excesso de fósforo. Além disso, a multiplicação de FMAs pelo método *On-farm* mostrou-se uma estratégia eficaz para viabilizar a produção local de insumos agrícolas de baixo custo e alta eficiência.

Dessa forma, a pesquisa contribui para o desenvolvimento de soluções agrícolas mais sustentáveis e economicamente acessíveis, reforçando a importância de práticas agrícolas baseadas na reutilização de resíduos industriais e na integração de tecnologias biológicas. Estudos futuros devem explorar a interação de diferentes espécies de FMAs e resíduos, além de avaliar seus impactos a longo prazo em solos e culturas específicas.

REFERÊNCIAS

ADLER, P. B.; FAJARDO, A.; KLEINHESSELINK, A. R.; KRAFT, N. J. B. Trait-based Test of Coexistence Mechanisms. **Ecology Letters**. v. 16. n. 10. p. 1294-1306, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1111/ele.12157>

ATKINSON, C. J.; FITZGERALD, J. D.; HIPPS, N. A. Potential mechanisms for achieving agricultural benefits from biochar application to temperate soils: a review. **Plant and Soil**, Amsterdam. v. 337. p. 1-18, 2010

BENÍCIO, L. P. Overview Of The Use Of Phosphate Fertilizers In Brazil, a Review. **Revista Agr-Envirnmental Sciences**. Palmas-TO,v.8, Ed. Especial, 2022. DOI: <https://doi.org/10.36725/agries.v8i2.7761>

BERBARA, R. L. L.; SOUZA, F. A.; FONSECA, H. M. A. C. Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição. Em: SBCS. **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa: Fernandes, MS, 2006. p. 54-85.

BONFANTE, P.; GENRE, A. Mechanism Underlying Beneficial Plant-Fungi Interactions in Mycorrhizal Symbioses. **Nature communications**. v. 1. n.48, 2010. DOI: 10.1038/ncomms1046

BRASIL. **Decreto no 4.954**, de 14 de janeiro de 2004. Regulamenta a Lei no 6.894, de 16 de dezembro de 1980, que dispõe sobre a agricultura orgânica. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 14 jan. 2004. Disponível: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/ato2004-2006/2004/decreto/d4954.htm

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). **Resolução n.º 313**, de 29 de outubro de 2002. Dispõe sobre o inventário nacional de resíduos sólidos industriais. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 31 out. 2002.

BRASIL. Ministério do Trabalho. **Norma Regulamentadora n.º 25: Resíduos Industriais**. Aprovada pela Portaria n.º 3.214, de 8 de junho de 1978. Disponível: <https://www.gov.br/trabalho-e-previdencia/pt-br/assuntos/seguranca-e-saude-no-trabalho/normas-regulamentadoras/nr-25>. Acesso em: 4 dez. 2024.

BRASIL. **Conselho Nacional do Meio Ambiente**. Resolução nº 481, de 3 de outubro de 2017. *Diário Oficial da União: seção 1*, Brasília, DF, 4 out. 2017. Disponível em: <https://www.agencia.baciaspcj.org.br/docs/resolucoes/resolucao-conama-481-17.pdf>. Acesso em: 3 mar. 2025.

BRASIL. **Secretaria de Assuntos Estratégicos**. Desafios e perspectivas para a indústria de fertilizantes no Brasil. Brasília, 2022. Disponível em: https://www.gov.br/planalto/pt-br/assuntos/assuntos-estrategicos/documentos/estudos-estrategicos/sae_publicacao_fertilizantes_v10.pdf.

BRASIL. Ministério do Trabalho e Previdência. **Portaria MTP no 3.994, de 5 de dezembro de 2022**. Aprova a nova redação da Norma Regulamentadora no 25 (Resíduos Industriais).

Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 6 dez. 2022. (Processo no 19966.100840/2022- 13). Disponível: <https://www.gov.br/trabalho-e-previdencia>. Acesso em: 4 dez. 2024.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). **Resolução no 465, de 5 de dezembro de 2014**. Dispõe sobre critérios e diretrizes para o licenciamento ambiental de empreendimentos de reciclagem de resíduos da construção civil e resíduos volumosos. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 8 dez. 2014. Disponível: <http://www2.mma.gov.br/port/conama>. Acesso em: 4 dez. 2024.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instrução **Normativa no 61, de 2020**. Estabelece critérios para a gestão e regulamentação ambiental de resíduos. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 12 abr., 2020. Disponível: <https://www.gov.br/mma/pt-br>. Acesso em: 4 dez. 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Programa Nacional de Bioinsumos**, 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inovacao/bioinsumos>.

BRUNDRETT, M. C. Coevolution of Roots and Mycorrhizas of Land Plants. **New Phytologist**, n.154. p. 275-304, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2002.00397.x>

BRUNDRETT, M.; MELVILLE, L.; PETERSON, L. Practical Methods in Mycorrhiza Research. Guelph, Ontario, Canada, 80p, 1994.

CAJAMARCA, S. M. N.; MARTINS, D.; FONTENELLE, M. R.; GUEDES, I. M. R.; FIGUEIREDO, C. C.; LIMA, C. E. P. Heterogeneity in the Chemical Composition of Biofertilizers, Potential Agronomic Use, and Heavy Metal Contents of Different Agro-Industrial Wastes. **Sustainability**. v. 11. ed. 7, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/su11071995>

CAVALCANTES, U. M. T.; MAIA, L. C.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; SANTOS, V. F. Respostas fisiológicas em mudas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims. f. *flevicarpa* Deg.) inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares e submetidas a estresse hídrico. **Acta Botânica Brasilica**. v. 15. n. 3. p. 379–390, 2001.

CAMERON, D. D.; NEAL, A. L.; VAN WEES, S. C. M.; TON, J. Mycorrhiza-induced resistance: more than the sum of its parts?. **Trends in Plant Science**. v. 18. n. 10. p.539-545, 2013.

CARDOSO, E. J. B. N.; ESTRADA-BONILLA, G. A. **Biotecnologia industrial**. 2. ed. São Paulo: Blucher. v. 9, pág. 305-327, 2019

CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo**. Piracicaba, SP: Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2020

CARRARO, J. F.; CORTINA, P. H.; BRUM, D. L. **Multiplicação Biológica: On-farm**. 2022. 18 f. TCC (Graduação) - Curso de Curso Técnico, Colégio Agrícola Estadual Ângelo Emílio Grando, Erechim -Rs, 2022. Disponível: <https://www.agptea.org.br/wp-content/uploads/2022/09/On-farm.pdf>. Acesso em: 20 jun. 2023.

CHAYASEN, A.; CHAIYA, L.; DOUDS, D. D.; LUMYONG, S. Influence of Host Plants and Soil Diluent on Arbuscular Mycorrhizal Fungus Propagation fir On-farm Inoculum Production Using Leaf Litter Compost and Agrowastes. **Biological Agriculture & Horticulture**. v. 33. n. 1. p. 52-62, 2017. DOI10.1080/01448765.2016.1187670

CORDIER, S.; POZO, M. J.; BAREA, J. M.; GIANINAZZI, S.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Cell Defense Responses Associated with Localized and Systemic Resistance to *Phytophthora parasitica* in Tomato by Arbuscular Mycorrhizal Fungus. **Molecular Plant Microbe Interactions**, v.11, p. 1017-1028, 1998.

COSTA, A. S. V. Resíduos Industriais como Matéria Prima na Produção de Biofertilizantes e Utilização no Cultivo de Milho e Feijão. **Research, Society and Development**. v. 9. n. 8. p., 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i8.6125>

CZERNIAK, M. J.; STÜRMER, S. L. Produção de inoculante micorrízico na fazenda utilizando resíduos da indústria florestal. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v. 38. p. 1712- 1721, 2014.

DALLA COSTA, M. **Micorrização e resistência a *Fusarium oxysporum* Sch. f. sp. herbemontis em genótipo de porta-enxerto de videira**. 2010. 144 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetai, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

DELAVAUX, C. S.; SMITH-RAMESH, L. M.; KUEBBING, S. E. Beyond Nutrients: a meta-analysis of the diverse effects of arbuscular mycorrhizal fungi on plants and soils. **Ecology: Ecological society of America**. v. 98. n.8. p. 2111-2119, 2017. DOI: <https://doi-org.ez130.periodicos.capes.gov.br/10.1002/ecy.1892>.

DOUDS JR, D. D.; LEE, J.; UKNALIS, J.; BOATENG, A. A.; ZIEGLER-ULSH, C. Pelletized Biochar as a Carrier for AM Fungi in the On-farm System of Inoculum Production in compost and Vermiculite Mixtures. **Compost Science & Utilization**. v. 22. n. 4. p. 253-262, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1080/1065657X.2014.941515>

DOUDS JR, D. D.; NAGAHASHI, G.; PFEFFER, P. E.; REIDER, C.; KAYSER, W. M.. On-farm Production of AM Fungus Inoculum in Mixtures of Compost and Vermiculite. **Tecnologia de Biorecursos**. v. 6. p. 809-818, 2006. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.04.015>

DOUDS JR, D. D.; NAGAHASHI, G.; SHENK, J. E.; DEMCHAK, K.. Inoculation of Strawberries with AM Fungi Produced On-farm Increased Yield. **Biological Agriculture & Horticulture**. v. 26. n. 3. p. 209-219, 2012. DOI: 10.1080/01448765.2008.9755084

DOUDS JR, D. D.; CARR, E.; SHENK, J. E.; GANSER, S. Positive Yield Response of Eggplant(*Solanum melongena* L.) to Inoculation With AM Fungi Produced On-farm. **Scientia Horticulturae**, n. 224, p. 48-52. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2017.05.017>

DOUDS JR, D.D.; LEE, J.; MCKEEVER, L.; ZIEGLER-ULSH, C.; GANSER, S. Utilization of Inoculum of AM Fungi Produced On-farm Increases the Yield of *Solanum lycopersicum*: Summary of 7 Years of Field Trials on a Conventional Vegetable Farm with High Soil Phosphorus. **Scientia Horticulturae**. v. 207. p. 89-96, 2016

ENGLANDER, A. C.; DOUDS JR., D. D.; MAILORY, E. B. On-farm Produced Microbial Soil Inoculant Effects on Bread Wheat(*Triticum aestivum*) production. **Biological Agriculture & Horticulture**. v.32. n. 2. p. 85-97, 2016. DOI:<http://dx.doi.org/10.1080/01448765.2015.1056229>

FOLLI-PEREIRA, M. S.; MEIRA-HADDAD, L. S.; BAZZOLLI, D. M. S.; KASUYA, M. C. M. Micorriza Arbuscular e Tolerância das Plantas ao Estresse. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 6, pág. 1663-1679, nov. 2012. DOI:<https://doi.org/10.1590/S0100-06832012000600001>.

GALBIATTI, J. A.; SILVA, F. G.; FRANCO, C. F.; CAMELO, A. D. Desenvolvimento de Feijoeiro Sob o Uso de Biofertilizante e Adubação Mineral. **Saneamento e Controle Ambiental. Eng. Agríc.** 31,2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-69162011000100017>

GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. Spores of Mycorrhizal Endogene Species Extrated from Soil by wet Sieving and Decanting. **Trans. British Mycol. Soc.**, 46:235-244, 1963.

GIACOMINI, L. A. **Transposição de Serrapilheira em Processo de Restauração Ambiental: Análise de Fungos Endomicorrízicos no Município de Cabraúva, SP.** 2019. 64 f. Dissertação (Mestrado em Sustentabilidade na Gestão Ambiental) – Universidade Federal de São Carlos, Sorocaba, 2019. Disponível: <https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/11652/DissertaçãoFinal_13_08_201

GIOVANNETTI, M. & MOSSE, B. An Evaluation of Techniques for Measuring Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Infection in Roots. **New Phytol.**, 84:489-500, 1980.

GRAGEDA-CABRERA, O. A.; DÍAZ-FRANCO, A.; PEÑA-CABRIALES, J. J.; VERA-NUÑEZ, J. A. Impacto de los Biofertilizantes em la Agricultura. **Revista Mexicana de Ciências Agrícolas**. v. 3. n. 6, 2012.

GOETTEN, L. C.; MORETTO, G.; STUMER, L. S. Influence of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Inoculum Produced On-farm and Phosphorus on Growth and Nutrition of Native Woody Plant Species from Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 30, p. 9-16.2016. DOI: 10.1590/0102- 33062015abb0175

GOMIDE, P. H. O.; SANTOS, J. G. D.; SIQUEIRA, J. O.; SOARES, C. R. F. S. Diversidade

e Função de Fungos Micorrízicos Arbusculares em Sucessão de Espécies Hospedeiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 44. n. 11. p. 1483-1490, 2009

HAZZOUMI, Z.; AZAROUAL, S. E.; MERNISSI, N. E.; ZAROUAL, Y.; DUPONNOIS, R.;

BOUIZGARME, B.; KADMIRI, I. M. Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Isolated From

Rock Phosphate Mine and Agricultural Soil on the Improvement of Wheat Plant Growth. **Frontiers in Microbiology**. v. 13, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.881442>

HOEKSEMA, J. D.; CHAUDHARY, V. B.; GEHRING, C. A.; JOHNSON, N. C.; KARST, J.; KOIDE, R. T.; PRINGLE, K. A.; ZABINSKI, C.; BEVER, J. D.; MOORE, J. C.; WILSON, G. W. T.; KLIRONOMOS, J. N. ; UMBANHOWAR, J. A Meta-analysis of Context- dependency in Plant Response to Inoculation with Mycorrhizal Fungi. **Ecology letters**. v. 13. n. 3. p. 394-407, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2009.01430.x>

JAYNE, B.; QUIGLEY, M. Influence of Arbuscular Mycorrhiza on Growth and Reproductive

Response of Plants Under Water Deficit: a Meta-analysis. **Mycorrhiza**. v. 24. p. 109-119, 2013.

JASTRZEBSKA, M.; SAEID, A.; KOSTRZEWSKA, M. K.; BASLADYNSKA, S. New Phosphorus Biofertilizers from Renewable Raw Materials in the Aspect of Cadmium and Lead Contents in Soil and Plants. **Open Chemistry**. v. 16. ed. 1, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1515/chem-2018-0004>

KOKKORRIS, V.; HART, M. In vitro Propagation of Arbuscular Mycorrhizal Fungi May Drive Fungal Evolution. **Frontiers in Microbiology**. v. 10, 2019

KOUR, D.; RANA, K. L.; YADAV, A. N.; YADAV, N.; KUMAR, M.; KUMAR, V.; VYAS, P.; DHALIWAL, H. S.; SAXENA, A. K. Microbial Biofertilizers: Bioresources And Eco- friendly Technologies For Agricultural And Environmental Sustainability. **Biocatalysis and**

Agricultural Biotechnology. v.23, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101487>

LEKBERG, Y.; KOIDE, R. T. Is Plant Performance Limited by Abundance of Arbuscular Mycorrhizal Fungi? A Meta-analysis of Studies Published Between 1988 and 2003. **New Phytologist**. v. 168. ed. 1. p. 189-204, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01490.x>

LEHMANN, J.; JOSEPH, S. **Biochar for Environmental Management: an Introduction**. In: LEHMANN, J.; JOSEPH, S. (Ed.). Biochar for environmental management: science and Technology. London:Earthscan. p. 1-12, 2009. DOI: <https://periodicos.ufsm.br/cienciaflorestal/article/view/32128/pdf>

LINDERMAN, R. G. Mycorrhizal Interactions with the Rhizosphere Microflora: the Mycorrhizosphere Effect. **Phytopathology**, St. Paul, v. 78, n. 33, p. 366-371, 1988.

MANTOVANI, G. C.; VALENTE, A. M.; BASTOS, R. C. Análise Exploratória da Produção e Exportação de Soja e Importação de Fertilizantes pelo Brasil. **CONCILIUM**, v.23, n.2,2023. DOI:10.53660/CLM-782-23A238

MOHANDAS, S. Field Responde of Papaya(Carica papaya L. cv. CoorgHoney Dew) to Inoculation With Arbuscular Mycorrhizal Fungi at Different levels of phosphorus. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**. v. 87. n. 5. p. 514-518, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1080/14620316.2012.11512904>

MOREIRA, F. M. S. ; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímicas do Solo**. 2. ed. Lavras: Ufla, 2006. 729 p. -2006

MOREIRA, B. C.; JUNIOR, P. P.; JORDÃO, T. C.; SILVA, M. C. S.; RIBEIRO, A. P. F.; STÜRMER, S. L.; SALOMÃO, L. C. C.; OTONI, W. C.; KASUYA, M. C. M. Effect of Inoculation of Pineapple Plantlets With Arbuscular Mycorrhizal Fungi Obtained from Different Inoculum Sources Multiplied by the On-farm Method. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. n. 43, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/18069657rbcs20180148>

NOGUEIRA, N. O.; TOMAZ, M. A.; ANDRADE, F. V.; REIS, E. F.; BRINATE, S. V. B. Influência da Aplicação de Dois Resíduos Industriais nas Propriedades Químicas de Dois Solos Cultivados com Café Arábica. **Ciência do Solo**. **Rev. Ciênc. Agron.** v. 43. ed.1., 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1806-669020120001000INS02>

ODUM, E. P. **Fundamentos da Ecologia**.6a Ed. 927 P. Lisboa Fundação Calouste Gulbenkian. 2001.

OLIVEIRA JUNIOR, J. Q.; JESUS, E. C.; SOUZA, R. C.; SILVA, C. F. PEREIRA, M. G. A Mixture of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Favors Brazilian Pepper Seedlings Under an Intermediate Level of Soil Phosphorus. **Rev. Caatinga, Mossoró**. v. 35. n. 3. p. 641-648. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1983-21252022v35n315rc>

PEREIRA, S. M. S.; SAGGIN JR, O. J.; RAMOS, M. L. G.; KONRAD, M. L. F. A. Esporulação e Colonização Radicular por Fungos Micorrízicos Arbusculares em *Paepalanthus* sp. Sob Diferentes Níveis de Umidade e Campos Rupestres. **Uniciências**. v. 26. n. 2. p. 93-99, 2022

PRIMIERY, S.; MAGNOLI, S. M.; KOFFEL, T.; STÜRMER, S. L.; BEVER, J. D. Perennial, but Not Annual Legumes Synergistically Benefit from Infection with Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Rhizobia: a Meta-analysis. **New Phytologist**. v. 233. n. 1. p. 505-514., 2022. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.17787>

QIU, Q.; BENDER, S. F.; MGELWA, A. S.; HU, Y. Arbuscular Mycorrhizal Fungi Mitigate Soil Nitrogen and Phosphorus Losses: A Meta-anlysis. **Science of The Total Environment**. v. 807. ed. 1., 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150857>

RICHARDSON, A. E.; LYNCH, J. P.; RYAN, P. R.; DELHAIZE, E.; SMITH, F. A.; SMITH, S. E.; HARVEY, P. R.; RYAN, M. H.; VENEKLAAS, E. J.; LAMBERS, H.;

OBERSON, A.; CULVENOR, R. A.; SIMPSON, R.J. Plant and Microbial Strategies to Improve the Phosphorus Efficiency of Agriculture. **Plant and Soil**. v. 349. p. 121-156, 2011.

ROSA, E. F. F.; ANDRADE, C. N.; LUZ, S.; KASEKER, J. F.; NOHATTO, M. A.; NAGEL, L. E. T. Evaluation of the Interaction Between Phosphate Solubilizing Bacteria and Mycorrhizae, with Phosphorus Doses in Corn Crop. **Revista de Ciências Agrárias**. v. 23. n. 2, 2024. DOI: <https://doi.org/10.5965/223811712322024265>

SALES, L. R.; SILVA, A. O.; SALES, F. R.; RODRIGUES, T. L.; BARBOSA, M. V.; SANTOS, J. V.; KEMMELMEIER, K.; SIQUEIRA, J. O., CARNEIRO, M. A. C. On-farm Inoculation of Native Arbuscular Mycorrhizal Fungi Improves Efficiency in Increasing Sugarcane Productivity in the Field. **Rhizosphere**. v. 22., 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2022.100539>

SAMPAIO, D. B.; MENDES FILHO, P. F.; MASCENA, A. M.; GOMES, V. F. F.; GUIMARÃES, F. V. A. Colonização micorrízica arbuscular e tolerância ao mal-do-Panamá em mudas de banana-maçã. **Revista Ciência Agronômica**, [S.L.], v. 43, n. 3, p. 453-469, set. 2012. FapUNIFESP (SciELO). DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s1806-66902012000300007>

SCHOEN, C.; AUMOND, J. J.; STÜRMER, S. L. Efficiency of the On-farm Mycorrhizal Inoculant and Phonolite Rock on Growth and Nutrition of *Schinus terebinthifolius* and *Eucalyptus saligna*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v. 40, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/18069657rbcs20150440>

SCHLEMPER, T. R.; STÜRMER, S. L. On-farm Production of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Inoculum Using Lignocellulosic Agrowastes. **Mycorrhiza**. v. 24. p. 571-580, 2014.

SCHUBERT, A.; CAMMARATA, S.; EYNARD, I. Growth and Root Colonization of Grapevines inoculated with different mycorrhizal endophytes. **HortScience**. v. 23. n. 2. p. 302- 303, 1998.

SCHÜTZ, L.; GATTINGER, A.; MEIER, M.; MÜLLER, A.; BOLLER, T.; MADER, P.; MATHIMARAN, N. Improving Crop Yield and Nutrient Use Efficiency via Biofertilization- A Global Meta-analysis. **Frontiers in Plant Science**. v.8, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02204>

SEENIVASAGAN, R.; BABALOLA, O. O. Utilization of Microbial Consortia as Biofertilizers And Biopesticides for the Production of Feasible Agricultural Product. **Biology**. v. 10, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology10111111>

SIEVERDING, E. **Vesicular-arbuscular Mycorrhiza Management in Tropical Agrosystems**. Eschborn: GTZ. 371 p., 1997

SHAO, Y.; WANG, Z.; LIU, W.; ZHANG, X.; WANG, J.; GUO, P. Effects of Variations in Soil Moisture and Phosphorus Concentrations on the Diversity of the Arbuscular Mycorrhizal Fungi Community in an Agricultural Ecosystem. **Agriculture**. v.13. n. 6, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/agriculture13061272>

SHARMA, M. P.; ADHOLEYA, A. Enhanced Growth and Productivity Following Inoculation with Indigenous AM Fungi in Four Varieties of Onion (*Allium cepa* L.) in an Alfisol. **Biological Agriculture & Horticulture** v. 18. n. 1. p. 1-14, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1080/01448765.2000.9754860>

SHI, Z.; ZHANG, J.; LU, S.; LI, Y.; WANG, F. Arbuscular Mycorrhizal Fungi Improve the Performance of Sweet Sorghum Grown in a Mo-Contaminated Soil. **Journal of Fungi**. v. 6. n. 2. p. 44, 2020. DOI:10.3390/jof6020044

SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal Symbiosis**. Acad. Press, London, 605 pp, 1997.

SMITH, S. E.; READ, D. J. Mycorrhizal Symbiosis (Third Edition). **Soil Science Society of America Journal**. v. 73. n. 2., 2008. DOI:10.2136/sssaj2008.0015br

SOBRAL, L. F.; SOUZA, R.; BARROS, R. T. Aproveitamento de Resíduos Sólidos Urbanos na Agricultura. **Engenharia Sanitária e Ambiental**. Rio de Janeiro, v. 26. n. 4, p. 763-773, 2021. Disponível: <https://www.scielo.br/j/esa/a/MY53xbTzPxYhz783xdmKc8F/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: out. 2024.

SOHI, S. P.; KRULL, E.; LOPEZ-CAPEL, E.; BOL, R. Review of Biochar and Its Use and Function in Soil. In: SPARKS, D. L. (Ed.). **Advances in Agronomy**. Burlington: Academic Press, p. 47-82, 2010. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(10\)05002-9](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(10)05002-9)

SOUSA, G. G.; MARINHO, A. B.; ALBUQUERQUE, A. H. P.; VIANA, T. V. A.; AZEVEDO, B. M. Crescimento Inicial do Milho Sob Diferentes Concentrações de Biofertilizante Bovino Irrigado com Águas Salinas. **Revista Ciência Agronômica**. v. 43. n. 2, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1806-66902012000200005>

STOFFEL, S. C. G.; SOARES, C. R. F. S.; MEYER, E.; LOVATO, P. E.; GIACHINI, A. J. Yield Increase of Corn Inoculated with a Commercial Arbuscular Mycorrhizal Inoculant in Brazil. **Ciência Rural**, [S.L.], v. 50, n. 7, p. 1-2, 2020. FapUNIFESP (SciELO). DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20200109>.

TRABELSI, D.; MHAMDI, R. Microbial Inoculants and Their Impact on Soil Microbial Communities: A Review. **BioMed Research International**, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/863240>.

TRAZZI, P. A.; HIGA, A. R.; DIECKOW, J.; MANGRICH, A. S.; HIGA, R. C. Biocarvão: Realidade e Potencial de Uso no Meio Florestal. **Ciência Florestal**. Santa Maria. v. 28. n.2. p. 875-887, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.5902/1980509832128>

TRESEDER, K. A. Meta-analysis of Mycorrhizal Responses to Nitrogen, Phosphorus, and Atmospheric CO₂ in Field Studies. **New Phytologist**. v. 164. n. 2. p. 347-355, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01159.x>

VILAR, C. C.; VILAR, F. C. M. Phosphorus Behavior in Soil and Plant. **Ciências Exatas e da Terra e Ciências Agrárias**. v. 8. n. 2. p. 37-44, 2013

WALLACE, B. C.; LAJEUNESSE, M. J.; DIETZ, G.; DAHABREH, I. J.; TRIKALINOS, T. A.; SCHMID, C. H.; GUREVITCH, J. OpenMEE: Intuitive, Open-source Software for Meta- analysis in Ecology and Evolutionary Biology. **Methods in Ecology and Evolution**. v. 8. p. 941–947, 2017.

WARNOCK, D. D.; LEHMANN, J.; KUYPER, T. W.; RILLING, M. C. Mycorrhizal Responses to Biochar in Soil – Concepts and Mechanisms. **Plant and Soil**. Amsterdam, v. 300. p. 9-20, 2007. DOI: 10.1007/s11104-007-9391-5