



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) **PI 0715184-5 A2**

(22) Data de Depósito: 16/05/2007
(43) Data da Publicação: 15/01/2013
(RPI 2193)



(51) *Int.Cl.:*
B62D 25/14

(54) Título: NOVAS COMPOSIÇÕES DE INOCULA FÚNGICAS, O RESPECTIVO PROCESSO DE PREPARO E A RESPECTIVA APLICAÇÃO DO CRESCIMENTO DAS CULTURAS

(30) Prioridade Unionista: 25/07/2006 FR 0606794

(73) Titular(es): Institute de Recherche Pour Le Development
(I.R.D)

(72) Inventor(es): Robin Duponnois

(74) Procurador(es): Tavares Propriedade Intelectual
Ltda.

(86) Pedido Internacional: PCT FR2007000828 de
16/05/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2008/012399de
31/01/2008

(57) Resumo: NOVAS COMPOSIÇÕES DE INOCULA FÚNGICAS, O RESPECTIVO PROCESSO DE PREPARO E A RESPECTIVA APLICAÇÃO DO CRESCIMENTO DAS CULTURAS. Trata-se de novas composições de inocula fúngicas, como agente estimulante da micorização de culturas, assim como sua aplicação, e o respectivo processo de preparo.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção
para “**NOVAS COMPOSIÇÕES DE *INOCULA* FÚNGICAS,
O RESPECTIVO PROCESSO DE PREPARO E A
RESPECTIVA APLICAÇÃO DO CRESCIMENTO DAS**
5 **CULTURAS.**”.

A presente invenção refere-se às novas composições de *inocula* fúngicas, ao respectivo processo de preparo e à sua aplicação na melhoria do crescimento das culturas.

10 A micorização é uma associação de benefício mútuo entre um vegetal e um cogumelo micoriziano.

A importância dos cogumelos micorizianos nas plantações florestais foi colocada em evidência pela primeira vez em 1910 em testes de introdução de pinheiros exóticos no Quênia.
15 Enquanto essas plantações se soldavam geralmente por impedimentos espetaculares (plantações cloróticas, mortalidade muito elevada), sobre os conselhos do “Royal Botanic Gardens”, solo de velhas plantações de pinheiros foi importado da África do Sul, a fim de ser utilizado como substrato de cultura em estufa.

20 Com efeito, esse solo continha micorizas que são elementos mistos situados sobre as raízes dos vegetais formados pela justaposição de dois tipos de organismos: a plantação superior e os filamentos micelianos subterrâneos do cogumelo. Os cogumelos vão esgotar no solo os elementos
25 minerais, e, mais particularmente, os menos móveis, tais como o zinco, o cobre e o fósforo, e vão oferecer à plantação,

indispensáveis ao desenvolvimento desta. Em troca, a plantação dá ao cogumelo açúcares e substâncias de crescimento, assegurando sua sobrevivência. As micorizas exercem um papel importante na assimilação de certas formas de nitrogênio, assim
5 como na absorção da água do solo.

Essa técnica, utilizando um solo rico em propágulos fúngicos micorizianos, foi rapidamente divulgada com sucesso em outros países da África, como a Tanzânia, Uganda, Malawi, etc.

10 Depois, várias técnicas de micorização foram desenvolvidas e aquela utilizando cogumelos micorizianos sozinhos se baseia daqui para frente nas seguintes etapas: (I) isolamento e purificação de cepas fúngicas, (II) seleção de cepas em condições controladas de cepas fúngicas de bom desempenho
15 para um parâmetro determinado (por exemplo: efeito da cepa sobre o crescimento da plantação hospedeira) e (III) multiplicação da cepa em condições axênicas e produção de *inocula* fúngicas.

Distinguem-se dois tipos de cogumelos micorizianos, os cogumelos ectomicorizianos que se referem
20 essencialmente às essências florestais e aos cogumelos endomicorizianos que se referem às espécies vegetais herbáceas.

No que se refere aos cogumelos ectomicorizianos, duas formulações de *inoculum* foram testadas e mostraram efeitos espetaculares em estufas: (I) o *inoculum* de tipo
25 turba-vermiculita e (II) O inoculum de tipo esferas de alginato de cálcio.

Uma outra técnica utilizando bactérias micorizianas foi também desenvolvida, notadamente na patente US 5.935839. Essa patente descreve composições de *inoculum*, compreendendo cepas de bactérias micorizianas (*Arthrobacter sp*,
5 *Pseudomonas Fluorescent*) para favorecer o crescimento das coníferas.

Uma terceira técnica, utilizando uma associação de cogumelo micoriziano é também conhecida. Assim, a patente FR 2 678 281 descreve a utilização de um *inoculum* fúngico de
10 tipo turba-vermiculita, compreendendo um cogumelo ectomicoriziano (*L. lacacata* 10% (v/v)) em associação com uma bactéria (*Bacillus Pseudomonas fluorescente*).

A patente US 6 133 196 descreve a utilização de um *inoculum* fúngico de tipo turba-vermiculita-perlita,
15 compreendendo um cogumelo ectomicoriziano (*Heleboma arenosa* ou *Laccaria bicolor*) em associação com um bactéria (*Streptomyces, Pseudomonas diminuta*).

Uma última técnica, que compreende uma associação de cogumelo micoriziano com outros componentes, foi
20 também descrita e constitui, por exemplo, o objeto da patente FR 2 865 897 que se refere à produção de *inoculum* fúngicos, compreendendo um cogumelo endomicoriziano em associação com um agente estimulante (sorgolactona, demetilsorgolactona, alectrol, strigol e orbancol). A patente EP 0 209 627 se refere a
25 um processo de preparo de cogumelos endomicorizianos em associação com culturas de órgãos de raízes sobre um suporte

poroso constituído de vermiculita sozinha ou em associação com a turba.

Enfim, uma publicação de Duponnois R. et al. (FEMS Microbiology Ecology, 2006, 56: 292-303) descreve a utilização de um cogumelo ectomicoriziano em associação com o pó térmites para a melhoria do crescimento das plantações florestais. A composição descrita compreende um cogumelo ectomicoriziano. Essa composição é utilizada na dose importante de 1000 ml por grão ou plantação.

Todavia, todas essas técnicas possuem vários inconvenientes, do qual o principal é a produção em grande quantidade do *inoculum* fúngico que necessita do material relativamente sofisticado, apresentando um custo, por exemplo, para operações de replantio, incompatíveis com orçamentos geralmente alocados para esse tipo de operação e mais particularmente nos países do sul. Além disso, o *inoculum* fúngico de tipo turba-vermiculita ou esfera de alginato é geralmente produzido em bocais de vidro ou sacos plásticos, que têm um volume importante e cujo transporte deve ser feito, respeitando a cadeia do frio.

Uma das finalidades da invenção é de fornecer uma composição de *inoculum* fúngico utilizável como agente estimulante da micorização de culturas, tendo uma formulação tal que ela possa ser utilizada em doses nitidamente inferiores às aquelas classicamente utilizadas.

Uma outra finalidade da presente invenção é de fornecer composições de *inoculum* fúngico adaptáveis aos dois tipos de simbiose micoriziana (ectomicoriziana e endomicoriziana), o que permite a produção de plantações micorizadas de uma ampla faixa de espécies vegetais que vão das árvores frutíferas às plantações florestais, contrariamente ao estado da técnica, nas quais as técnicas utilizadas só são válidas para um tipo de micorização.

Uma das outras finalidades da presente invenção é de fornecer composições de *inoculum* fúngico, nas quais a associação de dois cogumelos ectomicorizianos e endomicorizianos permite estimular o crescimento das essências lignosas de crescimento rápido dos gêneros Casuarina, Allocasuarina, Eucalyptus e Acácia de origem Australiana.

Uma outra finalidade da invenção é de fornecer um processo de estímulo da micorização tal, que permita evitar as perdas de propágulos fúngicos habitualmente registradas nas técnicas clássicas de micorização.

A presente invenção se refere à utilização de pelo menos um *inoculum* fúngico e de pó de térmitas, como agente que estimula a micorização de culturas notadamente florestais, de cereais, remexidas, hortenses, frutíferas ou hortícolas, esse *inoculum* sendo utilizado em uma dose por elemento unitário de cultura, notadamente grão ou plantação, de aproximadamente pelo menos dez vezes inferior à dose utilizada na ausência de pó de térmitas.

Na presente invenção, foi descoberto que a associação de pó térmitas com *inoculum* fúngico permite reduzir consideravelmente as doses de *inoculum* utilizadas para a micorização e favorecer assim o reflorestamento, notadamente
5 das zonas tropicais e mediterrâneas, nas quais a prática da micorização controlada se justifica plenamente (solos carentes e erodidos, desertificação avançada, conservação da biodiversidade ameaçada pelas atividades antrópicas...), diminuindo consideravelmente o custo desta.

10 Pela dose utilizada, uma primeira vantagem da presente invenção é de favorecer o reflorestamento, notadamente das zonas tropicais e mediterrâneas, nas quais a prática da micorização controlada se justifica plenamente (solos carentes e erodidos, desertificação avançada, conservação da biodiversidade
15 ameaçada pelas atividades antrópicas...), diminuindo consideravelmente o custo desta. Além disso, a pequena quantidade de pó de térmitas utilizado (1 a 10% v:v) na presente invenção evita o risco de despovoamento de regiões inteiras de seus ninhos de térmitas.

20 A expressão “elemento unitário” de cultura designa, no caso, uma semente, grão, fruto, núcleo ou uma plantação sem ser limitado àqueles que permitem obter uma cultura florestal, de cereais, remexidas, hortense, frutífera ou hortícola.

25 A dose habitualmente utilizada no estado da técnica é de 100 ml a 1000 ml de *inoculum* de tipo turba-

vermiculita ou alginato de cálcio em associação ou não com um outro componente, por semente. Por conseguinte, a dose utilizada no caso é pelo menos inferior a 10 ml de *inoculum* e de pó de *ninho* de térmitas, por semente.

5 Em um modo de realização preferido da presente invenção o pó de térmitas utilizado provém de térmitas do gênero *Macrotermes* e, preferencialmente, do gênero *Macrotermes subhyalinus*.

10 Segundo um modo de realização vantajoso da presente invenção, o *inoculum* fúngico compreende pelo menos um cogumelo endomicoriziano, do gênero *Glomus*, notadamente escolhido dentre *Glomus mosseae*, *Glomus fasciculatus*, *Glomus aggregatum*, *Glomus intraradices* e, preferencialmente, *Glomus intraradices*.

15 Entende-se por cogumelo endomicoriziano, um cogumelo, do qual o micélio penetra nas células de raízes e desenvolve arbúsculos ou vesículas, quando é associado a raízes de plantações. Ele não forma manta fúngica em torno da raiz (Smith, S.E. & Read, D.J. (1997). Mycorrhizal symbiosis. 2^a
20 edição, UK, Academic Press.)

 De acordo com outro modo de realização vantajoso da presente invenção, o *inoculum* compreende pelo menos um cogumelo ectomicoriziano, do gênero *Pisolithus*, notadamente escolhido dentre *Pisolithus albus*, *Pisolithus*
25 *tinctorius*, ou do gênero *Scleroderma*, notadamente escolhido

dentre *Scleroderma*, *dyciosporum*, *Slecroderma verrucosum* e preferencialmente *Scleroderma dyciosporum*.

Entende-se por cogumelo ectomicoriziano um cogumelo, cujo micélio se desenvolve entre as células do córtex
 5 de raiz, mas não penetra nas células vivas, formando assim “a rede intercelular de Hartig”. Ele forma uma manta fúngica em torno da raiz (Smith, S.E. & Read, D.J. (1997). Mycorrhizal symbiosis. 2ª edição, UK, Academic Press.)

De acordo com um outro modo de realização
 10 vantajoso da presente invenção, o *inoculum* fúngico compreende um cogumelo endomicoriziano do gênero *Glomus*, notadamente escolhido dentre *Glomus mosseae*, *Glomus fasciculatus*, *Glomus aggregatum*, *Glomus intraradices* e preferencialmente *Glomus intraradices* e um cogumelo ectomicoriziano do gênero
 15 *Pisolithus*, notadamente escolhido dentre *Pisolithus albus*, *Pisolithus tinctorius*, ou do gênero *Scleroderma*, notadamente escolhido dentre *Scleroderma dyciosporum*, *Slecroderma verrucosum* e preferencialmente *Scleroderma dyciosporum*.

Essa associação de cogumelo ectomicoriziano e
 20 endomicoriziano é mais particularmente vantajosa para as essências lignosas de crescimento rápido dos gêneros Casuarina, Allocasuarina, Eucalyptus e Acácia de origem australiana.

Essas espécies florestais são freqüentemente utilizadas nos programas de reflorestamento em meio tropical
 25 úmido e seco, e a associação dos dois tipos de cogumelos micorizianos permite obter ganhos de crescimento em relação

àqueles registrados quando um tipo somente de cogumelo é inoculado (ver figura 1).

De acordo um outro modo de realização preferido da invenção, o *inoculum* fúngico é preparado por
5 crescimento sobre um suporte, de um cogumelo endomicoriziano ou de um cogumelo ectomicoriziano, o crescimento do cogumelo endomicoriziano que ocorreu sobre um suporte, notadamente de tipo areia, notadamente em presença de uma plantação micótrofa, o crescimento do cogumelo ectomicoriziano que ocorreu sobre
10 um suporte de tipo turba-vermiculita ou de esferas de alginato de cálcio.

Tratando-se do cogumelo endomicoriziano, ele se apresenta, por exemplo, sob a forma de raízes secas micorizadas, cortes em pedaço de 1 mm (compreendendo
15 aproximadamente 25 vesículas por mm de raízes) e misturadas à areia (esterilizada a 140°C, durante 40 minutos) a uma dose de 2 g de raízes micorizadas desse cogumelo endomicoriziano.

A plantação micótrofa, graças ao desenvolvimento de suas raízes, vai multiplicar o cogumelo
20 endomicoriziano.

A título de exemplos de plantações micótrofas, podem-se citar o milho miúdo, o sorgo e o milho.

O prazo de crescimento com o auxílio da plantação micótrofa é da ordem de quatro meses.

25 Tratando-se do cogumelo ectomicoriziano, o suporte utilizado é do tipo turba vermiculita e a cepa fúngica (um

implante fúngico retirado a partir de uma cultura “mãe”, a uma dose de aproximadamente 10 mg de peso seco de biomassa por implante) se desenvolve e coloniza em condições estéreis uma mistura de turba e de vermiculita (1: 4; v: v) e umedecida por uma
5 solução nutritiva.

De acordo com um modo de realização vantajoso, após três meses de cultura em bocais a 25°C, o *inoculum* fúngico é misturado ao substrato de cultura, à razão de um volume de *inoculum* para 9 volumes de solo de cultura.

10 Essa mistura é em seguida repartida em estojos onde é plantada a essência florestal escolhida. Caso a produção seja feita em pranchas de estufa, o *inoculum* pode ser fornecido à razão de dois litros por m² de solo onde serão semeados os grãos da essência escolhida.

15 No caso do suporte de esferas de alginato, de acordo com um modo de realização vantajoso, o micélio é multiplicado em um meio nutritivo líquido com fermentador, depois moído e misturado a uma solução de alginato de Na. Essa suspensão de fragmentos de micélio é, em seguida, derramada em
20 gota a gota em uma solução de cloreto de cálcio. O alginato polimeriza em presença de cálcio, dando assim esferas de alginato de cálcio de diâmetro escolhido, contendo os propágulos fúngicos. Essas esferas são, em seguida, inoculadas no solo das pranchas de estufa à razão de um litro de *inoculum* por m².

25 De acordo com um outro modo de realização vantajoso da invenção, o *inoculum* fúngico e o pó de térmitas são

associados a um substrato, notadamente escolhido dentre a areia, o composto proveniente de resíduos de cultura e preferencialmente de húmus, ou uma mistura de areia e de composto.

5 O *inoculum* fúngico utilizado no caso e no momento de sua utilização é o *inoculum* fúngico após crescimento, por exemplo, durante 4 meses para o cogumelo endomicoriziano e 3 meses, por exemplo, nos bocais para o cogumelo ectomicoriziano.

10 O termo composto designa, no caso, um produto obtido por conversão e valorização controlada das matérias orgânicas (subprodutos da biomassa, dejetos orgânicos de origem biológica) em um produto estabilizado, higiênico e rico em compostos de húmus.

15 De acordo com um modo de realização preferido da invenção, a relação *inoculum* fúngico : pó de térmitas está compreendida entre 0.1% (v:v) a 10% (v:v), preferencialmente, de 0.1% (v:v) a 5% (v:v) e, mais preferencialmente, de 0.1% (v:v) a 1% (v:v).

20 A pequena quantidade de pó de térmitas utilizada (0.1% a 10% v:v) na presente invenção evita o risco de despovoamento de regiões inteiras de seus ninhos de térmitas.

De acordo com um outro modo de realização vantajoso da invenção, a relação *inoculum* fúngico : substrato do
25 *inoculum* está compreendida de 1% (v:v) a 10% (v:v),

preferencialmente, de 1% (v:v) a 5% (v:v) e vale, mais preferencialmente, 1% (v:v).

De acordo ainda com um outro modo de realização vantajoso da invenção, a relação pó de térmitas: substrato do *inoculum* fúngico está compreendido de 1% (v:v) a 10% (v:v), preferencialmente, de 1% (v:v) a 5% (v:v) e vale, mais preferencialmente, 1% (v:v).

De acordo ainda com um outro modo de realização do processo acima, o cogumelo endomicoriziano é utilizado em espaços destinados às culturas, notadamente de cereais, remexidas, hortenses, frutíferas ou hortícolas e preferencialmente a hortelãos, frutíferas ou hortícolas.

As culturas de cereais compreendem notadamente a sevada, a aveia e o trigo, essa lista não sendo limitativa.

Por cultura remexida, é preciso compreender as leguminosas, tais como o trevo, a luzerna e trevo corniculado, e gramíneas, como a *fléole* dos prados, a *dactila* enroscada, essa lista não sendo limitativa.

As culturas hortelãs compreendem notadamente os tomates, as berinjelas, as batatas inglesas, as cenouras, a alface, o pepino, o melão, a couve, a couve-flor ...

As culturas frutíferas compreendem notadamente as maçãs, pêras, pêssegos, uva, cereja, limões, ameixas, essa lista não sendo limitativa.

As culturas hortícolas compreendem notadamente as flores, as plantações ornamentais, essa lista não sendo limitativa.

O termo “espaços destinados às culturas” designa no caso qualquer tipo de conteúdo, compreendendo elementos apropriados à cultura, tais como potes reservatórios, bocais, placas alveoladas, sem ser limitada àqueles, assim como qualquer outro tipo de terreno, peça de terra, campo, estufa...

Em um modo de realização preferido do processo descrito acima, o cogumelo ectomicoriziano é utilizado em espaços destinados às culturas florestais.

O termo “espaços destinados às culturas” tem aqui a mesma significação que acima.

As culturas florestais compreendem notadamente as mirtáceas, as pináceas, as abietáceas, as fagáceas, as tiliáceas, as ulmáceas, as salicáceas; essa lista não sendo limitativa.

De acordo com um modo de realização vantajosa da invenção, um cogumelo endomicoriziano e um cogumelo ectomicoriziano são utilizados em espaços destinados às culturas florestais, notadamente às essências lignosas dos gêneros Casuarina, Allocasuarina, Eucalyptus e Acácia de origem australiana.

Os dois cogumelos são utilizados do mesmo modo que descrito anteriormente para cada cogumelo, a saber que o cogumelo endomicoriziano misturado a um suporte

notadamente de tipo areia e o cogumelo ectomicoriziano é colocado em crescimento sobre um suporte de tipo turba-vermiculita ou de esferas de alginato de cálcio, por exemplo, durante 3 meses.

5 A invenção se refere também a uma composição que compreende:

a. um inoculum fúngico que compreende pelo menos um cogumelo endomicoriziano do gênero *Glomus*, notadamente escolhido dentre *Glomus mosseae*, *Glomus*
10 *fasciculatus*, *Glomus aggregatum*, *Glomus intraradices* e preferencialmente *Glomus intraradices*;

b. pó de térmitas, o tamanho das partículas desse pó de térmitas estando compreendido de 1 μm a 1000 μm e preferencialmente de 1 μm a 500 μm .

15 Essa peneira permite somente eliminar as partículas grosseiras da estrutura das térmitas (tipo pedras).

Essas partículas são retomadas, depois moídas de novo. Em geral, mais de 95% (em volume) da térmita pode ser moída e reduzida em pó.

20 Caso o pó não seja moído, as partículas são muito grosseiras e as estruturas de térmitas não podem ser repartidas de maneira homogênea no substrato,

a relação *inoculum* fúngico : pó de térmitas estando compreendida de 0.1% (v:v) a 10% (v:v),
25 preferencialmente 0.1% (v:v) a 5% (v:v) e, mais preferencialmente, de 0.1% (v:v) a 1% (v:v).

A composição descrita acima permite estimular a micorização notadamente das culturas de cereais, remexidas, hortenses, frutíferas ou hortícolas.

De acordo com um modo de realização preferido da invenção, o *inoculum* fúngico acima compreende:

- pelo menos um cogumelo endomicoriziano;
- um suporte de tipo areia;
- uma plantação micótrofa.

O *inoculum* fúngico provém, por exemplo, do crescimento de uma dose de 2 g de raízes micorizadas de cogumelo endomicoriziano.

Essa dose é também aquela utilizada na invenção.

De acordo com um outro modo de realização da invenção, essa mencionada composição compreende:

- a. um *inoculum* fúngico, compreendendo pelo menos um cogumelo endomicoriziano;
- b. pó de térmitas;
- c. um substrato escolhido dentre o composto proveniente de resíduos de cultura e preferencialmente húmus, a areia ou uma mistura de areia ou de composto, a relação pó de ninho de térmitas : substrato estando compreendida de 0.1% (v:v) a 10% (v:v), preferencialmente 0.1% (v:v) a 5% (v:v) e vale, mais preferencialmente, de 0.1% (v:v) e a relação *inoculum* fúngico : substrato estando compreendida de 0.1% (v:v) a 10% (v:v),

preferencialmente de 0.1% (v:v) a 5% (v:v) e valendo, mais preferencialmente, 1% (v:v).

O termo composto utilizado no caso têm a mesma significação que acima.

5 A invenção se refere também a uma composição que compreende:

a. um *inoculum* fúngico, compreendendo pelo menos um cogumelo ectomicoriziano do gênero *Pisolithus*, notadamente escolhido dentre *Pisolithus albus*, *Pisolithus*
10 *tinctorius*, ou do gênero *Scleroderma*, notadamente escolhido dentre *Scleroderma*, *dycdiosporum*, *Slecroderma verrucosum* e preferencialmente *Scleroderma dycdiosporum*;

b. pó de térmitas, o tamanho das partículas desse pó estando compreendido de 1 µm a 1000 µm,
15 preferencialmente de 1 µm a 500 µm;

c. um substrato escolhido dentre a areia, o composto proveniente de resíduos de cultura e, preferencialmente, de húmus ou uma mistura de areia e de composto,

a relação inoculum fúngico: pó de ninho de
20 térmitas estando compreendido entre 0.1% (v:v) a 10% (v:v), preferencialmente 0.1% (v:v) a 5% (v:v) e mais preferencialmente de 0.1% (v:v) a 1% (v:v), e

a relação *inoculum* fúngico : pó de térmitas estando compreendida entre 0.1% (v:v) a 10% (v:v),
25 preferencialmente 0.1% (v:v) a 5% (v:v) e valendo mais preferencialmente de 0.1% (v:v) a 1% (v:v), e

a relação pó de ninho de térmitas : substrato estando compreendida de 0.1% (v:v) a 10% (v:v), e preferencialmente de 1% (v:v) a 5% (v:v) e mais preferencialmente de 1% (v:v)

5 sob reserva que pelo menos uma das duas relações, *inoculum* fúngico : substrato ou pó de térmitas : substrato, seja inferior a 10% (v:v) e preferencialmente que pelo menos uma das duas mencionadas esteja compreendida de 1% (v:v) a 5% (v:v).

10 A composição descrita acima permite estimular a micorização das culturas notadamente florestais.

De acordo com um outro modo de realização da invenção, o *inoculum* fúngico da composição acima compreende:

- pelo menos um cogumelo ectomicoriziano;
- 15 - um suporte de tipo turba-vermiculita (1:4, v:v) ou esferas de alginato de cálcio.

O *inoculum* fúngico provém, por exemplo, do crescimento de uma dose de 10 mg de peso seco de biomassa de cogumelo ectomicoriziano.

20 A invenção se refere também a uma composição que compreende:

- a. um *inoculum* fúngico que compreende pelo menos um cogumelo endomicoriziano do gênero *Glomus*, notadamente escolhido dentre *Glomus mosseae*, *Glomus fasciculatus*, *Glomus aggregatum*, *Glomus intraradices* e
- 25 preferencialmente *Glomus intraradices* e um cogumelo

ectomicoriziano do gênero *Pisolithus*, notadamente escolhido dentre *Pisolithus albus*, *Pisolithus tinctorius*, ou do gênero *Scleroderma*, notadamente escolhido dentre *Scleroderma dyctiosporum*, *Scleroderma verrucosum* e, preferencialmente,
 5 *Scleroderma dyctiosporum*;

b. pó de térmitas, o tamanho das partículas desse pó de térmitas estando compreendido de 1 µm a 1000 µm e preferencialmente de 1 µm a 500 µm,

a relação inoculum fúngico : pó estando
 10 compreendido de 0.1% (v:v) a 10% (v:v), preferencialmente 0.1% (v:v) a 5% (v:v) e mais preferencialmente de 0.1% (v:v) a 1% (v:v).

A composição descrita acima estimular a micorização das culturas florestais, notadamente as essências
 15 lignosas dos gêneros Casuarina, Allocasuarina, Eucalyptus e Acácia de origem australiana.

De acordo com um modo de realização preferido da invenção, o *inoculum* fúngico da composição acima compreende:

20 - pelo menos um cogumelo endomicoriziano e um cogumelo ectomicoriziano;

- um suporte de tipo areia em presença de uma plantação micótrofa para o cogumelo endomicoriziano e um suporte de tipo turba-vermiculita (1:4, v:v) ou esferas de alginato
 25 de cálcio para o cogumelo ectomicoriziano.

O *inoculum* fúngico provém, por exemplo, do crescimento de uma dose de 2 g de raízes micorizadas de cogumelo endomicoriziano e, por exemplo, do crescimento de uma dose de 10 mg de peso seco de biomassa de cogumelo ectomicoriziano.

De acordo com um modo de realização preferido da invenção, a composição compreende:

- a. um *inoculum* fúngico;
- b. pó de térmitas;
- 10 c. um substrato escolhido dentre o composto proveniente de resíduos de cultura e preferencialmente de húmus, areia ou uma mistura de areia e de composto,

a relação pó de ninho de térmitas : substrato estando compreendida de 0.1% (v:v) a 10% (v:v),
15 preferencialmente 0.1% (v:v) a 5% (v:v) e valendo mais preferencialmente de 0.1% (v:v) e a relação *inoculum* fúngico : substrato estando compreendida de 0.1% (v:v) a 10% (v:v), preferencialmente de 0.1% (v:v) a 5% (v:v) e valendo mais preferencialmente 1% (v:v).

20 De acordo com um modo de realização preferido, em todas as composições descritas acima, o pó de térmitas provém de térmitas do gênero *Macrotermes* e preferencialmente do gênero *Macrotermes subhyalinus*.

A invenção se refere também a um processo de
25 estímulo da micorização em espaços destinados às culturas, nas quais uma mistura de *inoculum* fúngico e de pó de térmitas,

eventualmente moído, foi introduzida, o *inoculum* fúngico estando preparado por crescimento de pelo menos um cogumelo endomicoriziano com um suporte, ou por aumento de pelo menos um cogumelo ectomicoriziano sobre um suporte e esse *inoculum* sendo utilizado a uma dose por elemento unitário de cultura, notadamente grão ou plantação, de aproximadamente pelo menos dez vezes inferior à dose utilizada na ausência de pó de térmites.

A expressão “elemento unitário de cultura” designa no caso um grão, semente, fruto, núcleo ou uma plantação sem ser limitado àqueles que permitem obter uma cultura florestal, de cereais, remexida, hortenses, frutíferas ou hortícola.

De acordo com um modo de realização preferido do processo acima, a dose de inoculum fúngico por elemento unitário de cultura está compreendida de 0.01a 1 ml e, preferencialmente, de 0.01a 0.1 ml.

De acordo com um outro modo de realização preferido da invenção, o *inoculum* utilizado no processo acima é um *inoculum* fúngico específico da endomicorização, compreendendo pelo menos um cogumelo endomicoriziano do gênero *Glomus*, notadamente escolhido dentre *Glomus mosseae*, *Glomus fasciculatus*, *Glomus aggregatum*, *Glomus intraradices* e preferencialmente *Glomus intraradices*.

De acordo ainda com um outro modo de realização preferido da invenção, o *inoculum* utilizado no processo acima é um *inoculum* fúngico específico da ectomicorização, compreendendo pelo menos um cogumelo

ectomicoriziano do gênero *Pisolithus*, notadamente escolhido dentre *Pisolithus albus*, *Pisolithus tinctorius*, ou do gênero *Scleroderma*, notadamente escolhido dentre *Scleroderma dyctiosporum*, *Scleroderma verrucosum* e preferencialmente

5 *Scleroderma dyctiosporum*.

Em um outro modo de realização, o *inoculum* fúngico é um *inoculum* que compreende pelo menos um cogumelo endomicoriziano do gênero *Glomus*, notadamente escolhido dentre *Glomus mosseae*, *Glomus fasciculatus*, *Glomus aggregatum*, *Glomus intraradices* e preferencialmente *Glomus intraradices* e pelo menos um cogumelo ectomicoriziano do gênero *Pisolithus*, notadamente escolhido dentre *Pisolithus albus*, *Pisolithus tinctorius*, ou do gênero *Scleroderma*, notadamente escolhido dentre *Scleroderma dyctiosporum*, *Scleroderma verrucosum* e preferencialmente *Scleroderma dyctiosporum*.

10 *aggregatum*, *Glomus intraradices* e preferencialmente *Glomus intraradices* e pelo menos um cogumelo ectomicoriziano do gênero *Pisolithus*, notadamente escolhido dentre *Pisolithus albus*, *Pisolithus tinctorius*, ou do gênero *Scleroderma*, notadamente escolhido dentre *Scleroderma dyctiosporum*, *Scleroderma verrucosum* e preferencialmente *Scleroderma dyctiosporum*.

15 *verrucosum* e preferencialmente *Scleroderma dyctiosporum*.

De acordo com um modo de realização preferido do processo acima, o tamanho das partículas desse pó está compreendido de 1 µm a 1000 µm e, preferencialmente, de 1 µm a 500 µm.

De acordo com um outro modo de realização preferido, o pó de térmitas provém de térmitas do gênero *Macrotermes* e preferencialmente do gênero *Macrotermes subhyalinus*.

20 De acordo com um outro modo de realização

De acordo com um outro modo de realização do processo acima, uma mistura de *inoculum* fúngico e de pó de térmitas, eventualmente moído, em associação com substrato

25 processo acima, uma mistura de *inoculum* fúngico e de pó de térmitas, eventualmente moído, em associação com substrato

foram introduzidos o *inoculum* fúngico e o pó de térmitas tendo sido misturados com um substrato e esse *inoculum* fúngico sendo preparado por crescimento de um cogumelo micoriziano sobre um suporte.

5 De acordo com um modo de realização preferido, a relação *inoculum* : pó de térmitas está compreendida de 0.1% (v:v) a 10% (v:v), preferencialmente 0.1% (v:v) a 5% (v:v) e mais preferencialmente de 0.1% (v:v) a 1% (v:v).

De acordo com outro modo de realização
10 preferido, o *inoculum* fúngico é preparado por crescimento de pelo menos um cogumelo endomicoriziano à dose de aproximadamente 2 g de raízes micorizadas desse cogumelo endomicoriziano sobre um suporte constituído de areia em associação com uma plantação micótrofa ou por crescimento de
15 pelo menos um cogumelo ectomicoriziano à dose de aproximadamente 10 mg de peso seco de biomassa de cogumelo ectomicoriziano sobre um suporte constituído de turba-vermiculita (1:4, v:v) ou de esferas de alginato de cálcio.

De acordo ainda com um outro modo de
20 realização preferido, o *inoculum* fúngico e o pó de térmitas são misturados com um substrato, esse substrato sendo escolhido dentre a areia, o composto proveniente de resíduos de cultura e preferencialmente de húmus, ou uma mistura de areia e de composto,

25 a relação *inoculum* fúngico : substrato estando compreendida de 1% (v:v) a 10% (v:v), e preferencialmente de

1% (v:v) e 5% (v:v) e valendo preferencialmente 1% (v:v) e a relação pó de térmitas : substrato estando compreendido de 1% (v:v) e 10% (v:v), e preferencialmente 1% (v:v) a 5% (v:v) e valendo preferencialmente 1% (v:v).

5 De acordo com um modo preferido de realização, o processo comporta uma etapa de introdução de um elemento unitário de cultura em espaços destinados às culturas contendo previamente o *inoculum* fúngico e o pó de térmitas, esse elemento unitário de cultura sendo notadamente um grão ou um
10 plantio.

O grão ou a plantação são introduzidos em um espaço contendo já o *inoculum* fúngico.

De acordo com um outro modo de realização, o processo compreende as seguintes etapas:

- 15 a. preparo do *inoculum* fúngico por crescimento de pelo menos um cogumelo endomicoriziano e crescimento de pelo menos um cogumelo ectomicoriziano sobre um suporte;
- b. mistura do pó de térmitas, eventualmente moído e o do *inoculum* fúngico com substrato;
- 20 c. introdução da mistura obtida na etapa precedente em espaços destinados às culturas à dose por elemento unitário de cultura de 0.01a 1 ml de *inoculum* fúngico e preferencialmente de 0.01a 0.1 ml de *inoculum* fúngico;
- d. introdução de um elemento unitário de
25 cultura de grão a cultivar ou de uma plantação, nos espaços destinados às culturas contendo a mistura.

Esse processo comporta uma etapa de pré-inoculação das plantações em terrina em um volume de solo reduzido, e o que oferece a vantagem de evitar as perdas de propágulos fúngicos habitualmente registradas nas técnicas
5 clássicas de micorização.

DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

A figura 1 representa a influência da proporção da fertilização com pó de térmitas sobre a colonização micoriziana das sementes de *A. holosericea* com os diferentes
10 tratamentos de inoculação micoriziana.

(A) Inoculação endomicoriziana (primeira cultura)

----- PIF 1 %. $Y = 18,53 \ln x + 36,9$. $R = 0,78$. $p < 0,001$

15 -.-.- PIF 5 %. $Y = 15,99 \ln x + 27,9$. $R = 0,61$. $p < 0,004$

_____ PIF 10 %. $Y = 15,45 \ln x + 41,48$. $R = 0,67$. $p < 0,0012$

20 (B) Inoculação endomicoriziana (segunda cultura)

----- PIF 1 %. $Y = 5,73 \ln x + 34,7$. $R = 0,48$. $p < 0,031$

-.-.- PIF 5 %. $Y = 1,69 \ln x + 67,9$. $R = 0,14$. $p = 0,56$

25 _____ PIF 10 %. $Y = 11,9 \ln x + 40,9$. $R = 0,67$.
 $p = 0,005$

PIF: Proporção do inoculum fúngico.

A linha cheia com 59.3% nos gráficos (A) e (B) representa a colonização micoriziana das sementes *A. holosericea* obtida por inoculação fúngica habitualmente feita nas estufas (tabela 6).

(C) Inoculação ectomicoriziana (primeira cultura)

----- PIF 1 %. $Y = 10,98 \ln x + 40,8$. $R = 0,73$. $p < 0,00003$

10 -.-.- PIF 5 %. $Y = 4,26 \ln x + 49,4$. $R = 0,34$. $p < 0,14$

_____ PIF 10 %. $Y = 0,64 \ln x + 49,6$. $R = 0,67$. $p < 0,81$

15 (D) Inoculação ectomicoriziana (primeira cultura)

----- PIF 1 %. $Y = 2,87 \ln x + 54,1$. $R = 0,30$. $p = 0,19$

-.-.- PIF 5 %. $Y = 4,12 \ln x + 56,1$. $R = 0,58$. $p = 0,007$

20 _____ PIF 10 %. $Y = 6,3 \ln x + 53,9$. $R = 0,71$. $p = 0,0004$

PIF: Proporção do inoculum fúngico.

A linha cheia a 35.6% nos gráficos (C) e (D) representa a colonização micoriziana das sementes *A. holosericea* obtida por inoculação fúngica habitualmente feita nas estufas (tabela 6).

A figura 2 representa o efeito da melhora em pó de térmitas sobre o aumento das sementeiras de *A. holosericea* com diferentes densidades de inoculum fúngica após 4 meses de cultura sob estufa.

5 (A) Inoculação endomicoriziana (primeira cultura)

_____ PAT = 0 %.Y = 474,6 Ln x + 464,7.R =
0,87.p < 0,0001

10 _____ PAT = 1 %.Y = 785,1 Ln x + 732,1.R =
0,84.p < 0,0001

_____ PAT = 5 %.Y = 643,9 Ln x + 810,5.R =
0,76.p < 0,0001

_____ PAT = 10 %.Y = 745,6 Ln x + 759.R =
0,79.p < 0,0001

15 (B) Inoculação endomicoriziana (segunda cultura)

_____ PAT = 0 %.Y = 522,6 Ln x + 246,6.R =
0,93.p < 0,0001

20 _____ PAT = 1 %.Y = 803,9 Ln x + 293,6.R =
0,84.p < 0,0001

_____ PAT = 5 %.Y = 684,1 Ln x + 478,9.R =
0,76.p < 0,0001

_____ PAT = 10 %.Y = 536,6 Ln x + 594,5.R =
0,79.p < 0,0001

25 **PAT:** Proporção da melhora em pó de térmitas.

A linha hachurada em 2380.4 mg representa a biomassa total das sementeiras de *A. holosericea* inoculadas com *G. Intraradices* (A, B), aplicando o processo clássico de micorização controlada (ver tabela 6).

5 (C) Inoculação ectomicoriziana (primeira cultura)

$$\text{PAT} = 0 \%. Y = 549,7 \ln x + 225,9. R = 0,73. p = 0,0002$$

10 $\text{PAT} = 1 \%. Y = 174,2 \ln x + 477,8. R = 0,63. p = 0,0003$

$$\text{PAT} = 5 \%. Y = -33,2 x^2 + 412,7x + 378,6. R = 0,60. p = 0,02$$

$$\text{PAT} = 10 \%. Y = -14,9 x^2 + 168,4x + 710. R = 0,29. p = 0,47$$

15 (D) Inoculação ectomicoriziana (primeira cultura)

$$\text{PAT} = 0 \%. Y = 398,7 \ln x + 181,3. R = 0,82. p < 0,0001$$

20 $\text{PAT} = 1 \%. Y = 429,7 \ln x + 282,4. R = 0,90. p < 0,0001$

$$\text{PAT} = 5 \%. Y = 490,7 \ln x + 509,9. R = 0,85. p < 0,0001$$

$$\text{PAT} = 10 \%. Y = 617,9 \ln x + 178,1. R = 0,79. p < 0,0001$$

25 **PAT:** Proporção da melhora em pó de térmites.

A linha hachurada em 1680.3 mg representa a biomassa total das sementeiras de *A. holosericea* inoculadas com *P. albus* IR100 (C, D), aplicando o processo convencional de micorização controlada (ver tabela 6).

5

EXEMPLOS

Exemplo 1: Análise dos pós de térmitas de *M. subhyalinus*

As amostras de pó de térmitas *M. subhyalinus* foram retiradas em uma savana arbustiva, a 50 km do norte de Ouagadougou em Burkina Faso. Elas foram moídas, depois peneiradas sobre uma peneira de 2 mm antes da utilização. As características químicas e microbiológicas são apresentadas na tabela I:

NH ₄ ⁺ (µg N g ⁻¹ de pó de térmitas seco)	9,4
NO ₃ ⁻ (µg N g ⁻¹ de pó de térmitas seco)	3408,9
P disponível (µg g ⁻¹ de pó de térmitas seco)	22,5
Biomassa microbiana (µg C g ⁻¹ de pó de térmitas seco)	3,5
<i>Pseudomonas</i> fluorescentes (x 10 ² CFU g ⁻¹ de pó de térmitas seco)	79,3
<i>Actinomycetes</i> (x 10 ² CFU g ⁻¹ de pó de térmitas seco)	39,5
Ergosterol (µg g ⁻¹ de pó de térmitas seco)	0,316

Tabela 1: Características químicas e microbiológicas de pó de térmitas de *Macrotermes subhyalinus*.

Em resumo, o conteúdo de NH₄⁺ e NO₃⁻ foi medido segundo o método de Bremner (*Bremner J. M., Inorganic forms of nitrogen. Methods of Soil Analysis, Parte 2. Agronomy*

*Monographs, Vol. 9, (Black CA, ed), pp. 1179-1237. Agronomy Society of América and Soil Science Society of América, Madison, WI, (1965)), o fósforo disponível foi determinado segundo Olsen et al. (Olsen SR, Cole CV, Watanabe FS & Dean LA Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. Circular, Vol. 939, p. 19. US Department of Agriculture, Washington DC. (1954)). O conteúdo em ergosterol foi determinado, aplicando-se o método de Grande t West (Grant WD & West A W Measurement of ergosterol, diaminopimelic acid and glucosamine in soil: evaluation as indicators of microbial biomass. J. Microbiol 6: 47-53, (1986)). O método de extração-fumigação foi utilizado para estimar a biomassa microbiana (Amato M & Ladd JM (1988) Assay for microbial biomass based on ninhydrin-reactive in extracts of fumigated soil. Soil Biol Biochem 20: 107-114). A numeração das unidades que formam colônias (CFU) foi feita sobre meio gelosado King B para os *Pseudomonas* fluorescentes (King EO, Ward MK & Raney DE (1954) Two simple media for the demonstration of pyocyanine and fluorescein. J. Lab Clin Méd 44: 301-307) e sobre um meio Agar desprovido de actinomicetes (Difco Laboratories, Detroit, Mi) para os actinomicetes. A maior parte dos *Pseudomonas* fluorescentes pertencem à espécie *Pseudomonas monteillii* (Duponnois, R., Assigbetse, K., Ramanankierana, Kisa, M., Thioulouse, J. & Lepage, M. (2006). Litter-forager termite mounds enhance the ectomycorrhizal symbiosis between *Acácia**

holosericea A. Cunn. Ex G. Don and *Scleroderma dictyosporum* isolates. *FEMS Microbiology Ecology*, 56: 292-303).

Exemplo 2: Preparo de inoculação fúngica

O cogumelo ectomicoriziano *P. albus* IR100 foi mantido em um meio de *Agar Melin-Norkrans* (MMN) a 25°C (Marx, DH (1969) *The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections: I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. Phytopathology* 59: 153-163). O inoculum fúngico ectomicoriziano foi preparado segundo Duponnois et Garbaye (Duponnois R. Garbaye J (1991) *Techniques for controlled synthesis of the Douglas fir-Laccaria laccata ectomycorrhizal symbiosis. Ann Sci For* 48: 239-251). Bocais em vidro de um litro foram cheios com 600 ml de uma mistura de vermiculita e de turba (4:1; v:v) e autoclave (120°C 20 min). 300 ml de líquido MMN foram em seguida acrescentados a substrato, os bocais foram chumbados e autoclavados a 120°C durante 20 minutos. Após resfriamento, o substrato foi inoculado com cones fúngicos retirados no contorno das colunas fúngicas. Os bocais em vidros foram colocados a 25°C no escuro durante 3 meses. Uma mistura autoclavada de vermiculita-turba umedecida (meio MMN) foi utilizada para o controle, sem inoculação ectomicoriziana.

O cogumelo endomicoriziano *G. intraradices* (DAOM 181602, Ottawa Agricultural Herbarium) foi cultivado sobre milho miúdo (*Penisetum typhoides* cv. IKMV 8201) durante 12 semanas em uma estufa sobre um solo arenoso

autoclavado (120°C, 60'). O *inoculum* endomicoriziano é constituído de uma mistura de solo de risosfera contendo esporas, micélio e raízes micorizadas cortada em pedaços de 1 a 3 mm de comprimento portando aproximadamente 250 vesículas por cm².

- 5 Raízes de milho miúdo não micorizadas, preparada conforme acima foram utilizadas para o controle sem inoculação endomicoriziana.

Exemplo 3: Concepção experimental

- Grãos de *A. holosericea* foram esterilizados na
10 superfície com o ácido sulfúrico a 95% durante 60 minutos. A solução de ácido foi, em seguida, decantada e os grãos enxaguados, depois mergulhados durante 12 horas na água destilada estéril. Os grãos foram, em seguida, transferidos de maneira asséptica em caixas de Pétri cheias com 1% (m/v) de
15 meio Agar/água. Essas caixas foram incubadas a 25°C no escuro. Os grãos que germinaram foram utilizados, quando as raízes mediam de 1 a 2 cm de comprimento.

- O solo arenoso utilizado nessa experiência foi coletado em uma população de *A. holoserica* localizado a leste de
20 Dakar. Após colheita, o solo foi moído, passado através de uma peneira de 2 mm e autoclavado durante 60 minutos a 120°C para eliminar a microflora nativa. Após autoclavagem, suas características físico-químicas foram as seguintes: pH (H₂O) 5,3; 3,6% de argila; 0,0% de limão fino; 0,8% de limão grosseiro;
25 55,5% de areia fina; 39,4% de areia grosseira; 0.17% de carbono; 0,02% de nitrogênio; 8,5 C/N; 39 ppm de P total e 4,8 ppm de P

solúvel (Olsen SR, Cole CV, Watanabe FS & Dean LA (1954) *estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. Circular, Vol. 939, p. 19. US Department of agriculture, Washington DC*). Esse solo foi misturado com 0, 1, 5
5 e 10% (v/v) de pó de térmites *M. Subhyalinus*. A inoculação ectomicoriziana e endomicoriziana foi feita, misturando-se os solos com um inoculum fúngico (10/1; v/v) com uma mistura autoclavada de vermiculita-turba na mesma relação (controle ectomicoriziano) ou com raízes de milho miúdo não micorizadas
10 e seu solo risosférico (controle endomicoriziano).

Recipientes em plásticos (30 x 30 x 5 cm) cheios com essas misturas de solo foram, cada uma, plantadas com 100 grãos germinados de *A. holosericea*. As sementes foram guardadas sob estufa sob luz natural (aproximadamente 12
15 horas de luz do dia, temperatura diária média 30°C) e irrigadas sem fertilizante todos os dias. Três recipientes por tratamento foram dispostos de maneira completamente aleatória.

Após 1 a 2 meses de cultura, cinco plantas por recipiente foram desenraizadas e transferidas em um pote de um
20 litro entre (uma semente por pote) cheio com o mesmo solo esterilizado, mas sem fertilização de pó de térmites e inoculação fúngica. As sementes foram conservadas em uma estufa nas mesmas condições que acima e irrigadas diariamente sem fertilizante. Os potes foram dispostos de maneira completamente
25 aleatória com 15 potes por tratamento. Após 3 (primeira transplantação) e 2 (segunda replantação) meses de cultura, cinco

plantas de *A. holosericea* escolhidas de maneira aleatória em cada tratamento foram desenraizadas e os sistemas de raiz foram lavados cuidadosamente. O peso seco (uma semana a 65°C) da plântula foi medido. Os sistemas de raízes foram cortados em
5 pedaços de 1 cm e misturados. A percentagem de raízes curtas ectomicorizianas ($[\text{número de raízes curtas ectomicoriziana} / \text{número total de raízes curtas}] \times 100$) foi determinada sob estereomicroscópio com um aumento de 40x sobre uma amostra aleatória de pelo menos 50 raízes curtas por sistema de raiz. A
10 colonização interna de cogumelo endomicoriziano ao longo dos sistemas de raízes foi quantificada por iluminação e coloração das raízes, segundo o método de Phillips e Hayman (Phillips, J. M., Hayman, D.S., 1970. *Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for*
15 *rapid assessment of infection*. Trans. Br. Mycol. Soc. 55, 158-161). Os pedaços de raízes foram colocados sobre uma lâmina para uma observação ao microscópio com um aumento de 250. (Brundrett, M.C., Piche, Y., Peterson, R.L., 1985. *A developmental study of the early stages in vesicular-arbuscular*
20 *mycorrhizal formation*. Can. J. Bot. 63, 184-194). A extensão da colonização micoriziana foi expressa em termos de fração de comprimento de raiz com estruturas internas micorizianas (vesículas ou micélio): $(\text{comprimento de fragmento de raiz colonizado} / \text{comprimento total de fragmentos de raiz}) \times 100$,
25 depois o peso seco das raízes foi medido (1 semana a 65°C).

Paralelamente a essa experiência, sementeiras *A. holosericea* foram colocadas em cultura em potes de 1 litro cheios com o mesmo solo desinfetado que acima. Para a inoculação ectomicoriziana, o solo foi misturado com um *inoculum* fúngico de *P. albus* IR 100 (10/1; v/v). O controle (sem cogumelo) recebeu uma mistura autoclavada de vermiculita-turba úmida (meio MMN) em uma relação. Para a inoculação endomicoriziana, um orifício (1 cm x 5 cm) foi aberto em cada pote e cheio com um grama de raiz de milho miúdo fresco (micorizadas ou não para o tratamento controle sem cogumelo). Os orifícios foram, em seguida, cobertos com o mesmo solo autoclavado. As plantas foram molhadas diariamente sem fertilizante e dispostas de maneira completamente aleatória com oito amostras por tratamento. Elas foram conservadas sob estufa sob luz natural (aproximadamente 12 horas de luz do dia, temperatura média diária 30°C). Após 4 meses de cultura, as plantas de *A. holosericea* foram desenraizadas e suas biomassas aérea e de raiz, seus índices micorizianos foram medidos conforme descrito anteriormente.

EXEMPLO 4: análise estatística

Os dados foram tratados com uma análise de variância com uma variável ou duas variáveis. As médias foram comparadas, utilizando-se o teste de Newman e Keuls ($p < 0,05$). As percentagens de colonização micoriziana foram transformadas por arco sem ($\sqrt{}$), antes da análise estatística.

EXEMPLO 5: resultados

Efeitos da inoculação fúngica endomicoriziana e do fertilizante em pó de térmita sobre o crescimento das plantas e a colonização micoriziana de sementes de A. holosericea.

Para todas as proporções de inoculum fúngicas combinadas e para os dois tratamentos de culturas, há diferenças significativas entre a biomassa aérea e de raiz e a colonização micoriziana de sementeira de *A. holosericea* (tabelas 2 e 3).

Tabela 2: Efeito das proporções em inoculação endomicoriziana e de fertilizante em pó de térmita sobre o crescimento de *A. holosericea* e sobre a formação micoriziana após 3 meses de cultura em potes de um litro (primeiro plantio).

Fator ^(A)	Biomassa aérea (mg de peso seco)	biomassa das raízes (mg de peso seco)	Colonização micoriziana (%)
<i>Proporção do inoculum fúngico (%)</i>			
0	278,5 (26,8) ^{(1)a(2)}	62,5 (8.9)a	0a
1	1215,1 (89.1)b	350,5 (31.9)b	59,5 (5,1)c
5	1580 (73,1)c	520,1 (34,1)d	47,5 (5,6)b
10	1550 (88,8)c	444,1 (43,3)c	60,7 (4,9)c
<i>Proporção do fertilizante em pó de térmites (%)</i>			
0	838,5 (90,9)a	205,5 (36,2)a	18,0 (4,4)a
1	1215,1 (89,1)b	429,0 (55,1)b	18,0 (4,4)a
5	1580 (73,1)c	378,2 (48,2)d	47,5 (6,8)b

10		1550 (88,8)c	364,5 (48,2)c	53,1 (7,4)b
Proporção de		S	S	S
inoculum fúngico				
(PIF)				
Proporção de		S	S	S
fertilizantes em pó				
de térmitas (PAT)				
PIF X PAT		NS	S	S

S: significativo ($p < 0,05$), NS: não significativo ($p < 0,05$). ⁽¹⁾ Erro padrão sobre a média. ⁽²⁾ Os dados da mesma coluna e para cada fator seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes, segundo o teste Newman-Keuls ($p < 0,05$). ^(A) Os valores são as médias de 20 amostras para as proporções de inoculum fúngico e de fertilizante em pó de térmitas. O fator de proporção de inoculum fúngico é combinado para todos os tratamentos das proporções de fertilizantes de pó de térmitas. O fator de fertilizante de pó de térmitas é combinado para todos os tratamentos de proporção de inoculum fúngico.

Tabela 3: Efeito das proporções em inoculação endomicoriziana e de fertilizante em pó de térmitas sobre o crescimento de *A. holosericea* e sobre a formação micoriziana após 2 meses de cultura em potes de 1 litro (segunda plantação).

Fator ^(A)	Biomassa aérea (mg de peso seco)	Biomassa das raízes (mg de peso)	Colonização micoriziana (%)
----------------------	--	--	-----------------------------------

seco)			
<i>Proporção do inoculum fúngico (%)</i>			
0	190,1 (22,6) ^{(1)a(2)}	70,5 (8.,)a	0a
1	783,5 (41,5)b	238,1 (18,4)b	41,8 (2,5)b
5	1236,1 (48,9)c	357,1 (20,3)c	70.1 (2,6)d
10	1510,1 (73,9)d	334,5 (35,9)c	55,5 (4,3)
<i>Proporção do fertilizante em pó de térmitas (%)</i>			
0	709,6 (101,1)a	175,0 (25,6)a	31,0 (5,3)a
1	1000,5 (142,9)b	274,5 (43,3)b	47,3 (7,3)b
5	1019,5 (125,2)b	294,5 (30,7)b	41,5 (6,4)b
10	988,5 (113,4)b	256,1 (29,9)ab	47,5 (6,6)b
Proporção de inoculum fúngico (PIF)	S	S	S
Proporção de fertilizantes em pó de térmitas (PAT)	S	S	S
PIF X PAT	NS	S	S

Para as legendas, ver a tabela 2.

- Comparados ao controle, as biomassas e o índice de colonização micoriziana, os mais elevados, foram encontrados com a proporção de inoculum fúngico de 10% na primeira experimentação de cultura (ver tabela 2), enquanto que, na experiência da segunda cultura, a mais importante colonização micoriziana foi registrada com a taxa de inoculum fúngico de 5% (ver tabela 3).

Para todas as proporções combinadas de fertilizante em pó de térmitas na primeira experiência de cultura, o crescimento e a colonização micorizianas foram muito mais elevados nos solos inoculados com pó de térmitas comparado à
5 prova excluída para as biomassas de raízes para a proporção de fertilizante em pó de térmitas de 10% (ver tabela 2).

Na segunda experiência de cultura, nenhuma diferença importante foi encontrada entre os diferentes tratamentos de inoculação para as biomassas de raízes, mas o
10 efeito positivo do pó de térmita sobre a colonização micoriziana foi mantida (ver tabela 3). A biomassa aérea, mais elevada de *A. holosericea* foi registrada nas proporções de fertilizante em pó de térmitas a 5% (ver tabela 3). Interações significativas entre as inoculações fúngicas e os fertilizantes em pó de térmitas foram
15 encontradas para as biomassas de raízes e para a colonização micoriziana nos dois tratamentos de cultura (ver tabelas 2 e 3).

Efeitos do fertilizante em inoculação fúngica ectomicoriziana e em pó de térmita sobre o crescimento da planta e a colonização micoriziana de sementes A. holosericea.

20 A inoculação ectomicoriziana aumentou de modo significativo o crescimento e a colonização micoriziana de sementes de *A. holosericea* nas duas experiências de cultura (tabelas 4 e 5).

**Tabela 4: Efeito das proporções em
25 inoculação ectomicoriziana e do fertilizante em pó de térmita sobre o crescimento de *A. holosericea* e sobre a formação**

**micoriziana após 3 meses de cultura em potes de 1 litro
(primeira plantação)**

Fator ^(A)	Biomassa aérea (mg de peso seco)	Biomassa das raízes (mg de peso seco)	Colonização micoriziana (%)
<i>Proporção do inoculum fúngico (%)</i>			
0	278,5 (26,8) ⁽¹⁾ a (2)	62,5 (8,9)a	0a
1	830,5 (101,9)b	341,5 (29,4)c	54,2 93,2)b
5	771,0 (79,8)b	261,5 (25,7)b	54,6 (2,7)b
10	813,5 (104,9)b	277,5 (31,9)bc	50,4 (2,4)b
<i>Proporção do fertilizante em pó de térmites (%)</i>			
0	658,5 (122,5)b	288,5 (42,1)a	33,5 (4,8)a
1	482,5 (44,9)a	208,0 (23,6)a	39,6 (5,4)b
5	830,1 (101,3)c	268,1 (35,4)a	42,6 (6,3)b
10	722,5 (93,6)bc	228,0 (35,3)a	43,6 (6,3)b
Proporção de inoculum fúngico (PIF)	S	S	S
Proporção de fertilizantes em pó de térmites (PAT)	S	NS	S
PIF X PAT	S	S	S

Para as legendas, ver a tabela 2.

Tabela 5: Efeito das proporções em inoculação ectomicoriziana e do fertilizante em pó de térmita sobre o crescimento de *A. holosericea* e sobre a formação micoriziana após 2 meses de cultura em potes de 1 litro (segunda plantação).

Fator ^(A)	Biomassa aérea (mg de peso seco)	Biomassa das raízes (mg de peso seco)	Colonização micoriziana (%)
<i>Proporção do inoculum fúngico (%)</i>			
0	191,0 (27,9) (1) _a (2)	74,5 (12,9)a	0a
1	556,5 (61,4)b	166,1 (15,2)b	57,6 (2,1)b
5	745,5 (43,6)c	221,1 (17,4)c	61,1 (1,5)c
10	1197,5 (96,6)d	364,5 (27,1)d	61,6 (1,9)c
<i>Proporção do fertilizante em pó de térmites (%)</i>			
0	501,0 (77,1)a	167,0 (27,4)a	41,1 (5,5)a
1	612,2 (78,1)ab	195,0 (30,2)ab	41,6 (5,6)a
5	858,6 (96,9)c	250,5 (27,8)b	51,2 (6,8)c
10	719,1 (135,5)bc	213,5 (33,6)b	46,3 (6,4)b
Proporção de inoculum fúngico (PIF)	S	S	S
Proporção de fertilizantes em pó de térmites (PAT)	S	S	S
PIF X PAT	S	S	S

Para as legendas, ver a tabela 2.

Na primeira experiência de cultura, um efeito positivo significativo do inoculum fúngico foi encontrado sobre o crescimento e a colonização micoriziana de sementes de *A. holosericea* (tabela 4). O crescimento das raízes foi muito mais considerável quando as plantas foram inoculadas na taxa de 1% (ver tabela 4). No tratamento de segunda cultura, a biomassa aérea e de raiz a mais elevada foi registrada com a proporção de inoculum fúngico de 10% (tabela 5).

A fertilização do solo com o pó de térmita não teve nenhum efeito significativo sobre o crescimento das raízes, enquanto que aquela aumentou significativamente a colonização micoriziana das sementes na primeira experiência de cultura (ver tabela 4). Comparado ao controle (solo sem pó de térmita), o crescimento das raízes foi significativamente mais reduzido para o fertilizante em pó de térmita a 1% e mais elevado para o fertilizante em pó de térmita a 5% (tabela 4).

Na segunda experiência de cultura, os efeitos positivos sobre o crescimento da planta e a colonização micoriziana foram somente encontrados nos tratamentos a 5 e 10% de pó de térmita (ver tabela 5). Interações significativas entre as inoculações fúngicas e os fertilizantes em pó de térmitas foram encontrados para as biomassas de raízes e a colonização micoriziana nos dois tratamentos de cultura (ver tabelas 4 e 5).

Efeitos da inoculação fúngica e do fertilizante em pó de térmita sobre a colonização micoriziana de sementes de A. holosericea.

Utilizando-se o processo clássico de micorização controlada e após 4 meses de crescimento, as inoculações fúngicas endomicorizianas e ectomicorizianas aumentaram significativamente a biomassa aérea (respectivamente: + 64,7% e + 50,9%) e a biomassa das raízes (respectivamente: + 42,8% e + 48,2%) (tabela 6). As taxas de colonização micoriziana de sementes *A. holosericea* foram de 59,3% para o tratamento endomicoriziano e de 35,6% para o tratamento ectomicoriziano (ver tabela 6).

Tabela 6: Efeito das inoculações ectomicorizianas e endomicorizianas sobre o crescimento de A. holosericea e sobre a formação micoriziana após 4 meses de cultura sob estufa com o processo convencional de micorização controlada.

Tratamentos	Biomassa aérea (mg de peso seco)	Biomassa das raízes (mg de peso seco)	Colonização micoriziana (%)
Inoculação endomicoriziana			
Prova	648,1 a ⁽¹⁾	312,2 a	0
Glomus	1834,1 b	546,3 b	59,3
Intraradices			

Inoculação endomicoriziana

Prova		550 a	290 a	0
Pisolithus albus		1120,1 b	560,2 b	35,6
IR100				

⁽¹⁾Para cada tipo de inoculação fúngica, os dados na mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes, segundo o teste de Newman Keuls ($p < 0,05$).

5 *Relações entre o fertilizante em pó de térmita, a inoculação fúngica e a formação micoriziana.*

Nas duas experiências de cultura, a colonização endomicoriziana aumentou com taxas crescentes de fertilizante em pó de térmita exceto para o inoculum micoriziano a 5% na
10 segunda experiência de cultura (ver figuras 1 e 2).

No tratamento de primeira cultura, a colonização endomicoriziana obtida com o processo clássico de micorização controlada (59,3%) (tabela 6), foi atingida para todas as taxas de tratamentos micorizianos quando a inoculação fúngica
15 foi associada com 5% e 10% de fertilizantes em pó de térmitas e para os fertilizantes com 1% em pó de térmita, quando eles foram associados a um tratamento de inoculação endomicoriziana a 1 e 10% (figura 1A).

No segundo tratamento de cultura, a
20 colonização micoriziana de 59,3% foi atingida por todos os tratamentos endomicorizianos com um fertilizante em pó de térmita de 10% e nos tratamentos com fertilizante em pó de térmita de 5% para uma inoculação endomicoriziana de 5% e

10% (figura 1B). Nenhuma relação significativa foi encontrada entre a colonização micoriziana e as taxas de fertilizante em pó de térmita nos tratamentos de inoculação endomicoriziana a 5% (ver figura 1B).

5 Para a inoculação ectomicoriziana e na primeira experiência de cultura, os índices micorizianos eram iguais ou mais elevados que aqueles obtidos com o processo clássico de micorização controlada (35,6%) (figura 1C). A colonização micoriziana foi positivamente ligada a um fertilizante em pó de
10 térmita crescente para um tratamento de inoculação ectomicoriziana a 1% (ver figura 1C).

Na segunda experiência de cultura, a colonização micoriziana das sementes de *A. holosericea* foi significativamente mais elevada, para todos os tratamentos
15 fúngicos, que os obtidos com o método clássico (figura 1D). As taxas de ectomicorização foram correlacionadas para as proporções de fertilizante em pó de térmita com as proporções de inoculação ectomicorizianas a 5% e 10% (figura 1D).

Relações entre o fertilizante em pó de térmita, a
20 *inoculação fúngica e o crescimento das plantas.*

Para os tratamentos de inoculação endomicoriziana, o crescimento das plantas foi correlacionado de modo significativo para as quantidades propágulos micorizianas inoculados no solo com ou sem pó de térmita para os dois
25 tratamentos de cultura (figuras 2A e 2B).

Quando os pós de térmitas foram acrescentados, o crescimento das plantas foi significativamente aumentado e atingiu aquele obtido com o processo clássico de inoculação micoriziana (biomassa total = 2380,3 mg de peso seco) para o tratamento do *inoculum* fúngico a 10% endomicoriziano com os fertilizantes em pó de térmita a 1%, 5% e 10% na primeira experiência de cultura (figura 2A) e com fertilizantes em pó de térmitas a 1% e 5% da segunda experiência de cultura (figura 2B).

Para os tratamentos de inoculação ectomicoriziana, o crescimento das plantas foi correlacionado com as taxas de inoculação micoriziana exceto para o tratamento fúngico a 10% associado a um fertilizante em pó de térmita a 10% no tratamento da primeira cultura (figura 2C e 2D).

O peso total seco das sementes de *A. holosericea* classicamente inoculadas com *P. albus* e IR100 (biomassa total = 1680,2 mg peso seco) foi atingido para os tratamentos pelo *inoculum* fúngico a 10% com fertilizantes em pó de térmita a 1% e 10% na segunda experimentação de cultura (figura 2D), mas foi atingido apenas para o tratamento pelo *inoculum* fúngico a 5% com um fertilizante em pó de térmita a 5% na primeira experiência de cultura tanto quanto para o solo sem *P. albus* IR100, mas fertilizado com 10% de pó de térmita (figura 2C).

Exemplo 6: Conclusão

Os objetivos principais dessa experimentação eram de testar o efeito de um fertilizante em pó de térmita de

Macrotermas subhyalinus sobre a formação de micorizas entre *A. holosericea* e um isolado de *P. albus* (*P. albus* IR100) e de *Glomus intraradices*, utilizando um sistema de cultura dividido em duas etapas, de maneira a minimizar as quantidades de *inoculum* fúngico adicionado ao substrato de cultura. A primeira etapa dessa prática cultural foi efetuada para inocular as sementeiras de *A. holosericea*, enquanto que a segunda permitiu o desenvolvimento dessas plantas micorizadas em volumes de solo maior.

No presente estudo, a fertilização de térmites aumentou, de maneira significativa, a formação micoriziana dos dois isolados fúngicos. As quantidades de pó de térmita acrescentadas ao solo, na menor proporção (1%, v/v), induzem um aumento significativo da formação micoriziana. Esse efeito positivo foi realizado com somente $7.9 \cdot 10^3$ CFU por litro de substrato de cultura (aproximadamente 7 bactérias por grama de solo). Esse estudo mostra também uma interação significativa entre as doses fúngicas e as taxas de fertilização com térmita.

Todos esses resultados sugerem que a utilização do pó de térmita, tal como *M. subhyalinus*, que contém algumas MHB (“*Mycorrhiza Helper Bacteria*”), fornece um instrumento de *inoculum* benéfico para o desenvolvimento dessas bactérias, protegendo as células bacterianas de fatores ambientais prejudiciais.

Na maior parte dos tratamentos fúngicos descritos nesse estudo, o efeito estimulante do fertilizante em pó

de térmita sobre a formação micoriziana foi associado com o aumento do crescimento da planta. Isto sugere que o fertilizante em pó de térmita não interage com a eficácia da simbiose micoriziana.

5 Um dos problemas encontrados na micorização controlada clássica das plantações de florestas reside na grande quantidade de *inoculum* fúngico necessário para a produção de plantas micorizadas de alta qualidade em condições de estufas.

Nas zonas tropicais e mediterrâneas, a dose de
10 *inoculum* micoriziano acrescentada por planta ao substrato de cultura é geralmente de 1 litro por litro de solo (inoculação ectomicoriziana) e de um grama em peso recente de raízes micorizianas por litro de solo (inoculação endomicoriziana) (Duponnois, R., Plenchette, C., Prin, Y., Ducousso, M., Kisa, M.,
15 Ba, A.M. & Galiana, A. (2007). *Use of mycorrhizal inoculation to improve reforestation process with Australian Acácia in Sahelian ecozones. Ecological Engineering*, 29: 105-112).

Com um processo da invenção, essas quantidades são drasticamente reduzidas, já que, com somente
20 450 ml de *inoculum* ectomicoriziano ou endomicoriziano (mistura de esporas, raízes micorizianas e solo de risosfera), aproximadamente 100 plantas de *A. holosericea* podem ser produzidas com o mesmo crescimento e a mesma colonização micoriziana que plantas micorizadas produzidas pelo processo
25 clássico de micorização.

Por conseguinte, os custos de inoculação podem ser fortemente reduzidos, já que os térmites são comumente encontrados nos ecossistemas e já que as quantidades fúngicas requeridas são muito baixas.

- 5 Essa técnica de inoculação pode ser útil para o reflorestamento de regiões tropicais, considerando-se que é bem conhecido que a micorização controlada é um instrumento benéfico para aumentar a sobrevivência e a produtividade das variedades de árvores nas zonas degradadas.

REIVINDICAÇÕES

1. Uso de pelo menos um *inoculum* fúngico e de pó de térmita como agente estimulador da micorização de culturas notadamente florestais, de cereais, remexidas, hortences, frutíferas e hortícolas, sendo que esse *inoculum* é caracterizado pelo fato de ser utilizado em uma dose por elemento unitário de cultura, notadamente grão ou planta, de aproximadamente pelo menos dez vezes inferior à dose utilizada na ausência de pó de térmita.

2. Uso, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de o pó de térmita ser proveniente de térmitas do gênero *Macrotermes* e preferencialmente do gênero *Macrotermes subhyalinus*.

3. Uso, de acordo com uma das reivindicações 1 ou 2, caracterizado pelo fato de o *inoculum* fúngico compreender pelo menos um cogumelo endomicoriziano, do gênero *Glomus*, notadamente escolhido dentre *Glomus mosseae*, *Glomus fasciculatus*, *Glomus aggregatum*, *Glomus intraradices* e preferencialmente *Glomus intraradices*.

4. Uso, de acordo com uma das reivindicações 1 ou 2, caracterizado pelo fato de o *inoculum* fúngico compreender pelo menos um cogumelo ectomicoriziano, do gênero *Pisolithus*, notadamente escolhido dentre *Pisolithus albus*, *Pisolithus tinctorius* ou do gênero *Scleroderma*, notadamente escolhido dentre *Scleroderma dyctiosporum*, *Scleroderma verrucosum* e preferencialmente *Scleroderma dyctiosporum*.

5. Uso, de acordo com uma das reivindicações 1 ou 2, caracterizado pelo fato de o *inoculum* fúngico compreender um cogumelo endomicoriziano, do gênero *Glomus*, notadamente escolhido dentre *Glomus mosseae*, *Glomus fasciculatus*, *Glomus aggregatum*, *Glomus intraradices* e preferencialmente *Glomus intraradices* e um cogumelo ectomicoriziano, do gênero *Pisolithus*, notadamente escolhido dentre *Pisolithus albus*, *Pisolithus tinctorius* ou do gênero *Scleroderma*, notadamente escolhido dentre *Scleroderma dyctiosporum*, *Scleroderma verrucosum* e preferencialmente *Scleroderma dyctiosporum*.

6. Uso, de acordo com uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de o *inoculum* fúngico ser preparado por crescimento de um cogumelo endomicoriziano sobre um suporte, notadamente em presença de uma planta micótrofa, notadamente de tipo areia, ou crescimento de um cogumelo ectomicoriziano sobre um suporte de tipo turba-vermiculita ou de esferas de alginato de cálcio.

7. Uso, de acordo com uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado pelo fato de o *inoculum* fúngico e o pó de térmita serem associados a um substrato, notadamente escolhido dentre a areia, o composto proveniente de resíduos de cultura e preferencialmente de húmus ou uma mistura de areia ou de composto.

8. Uso, de acordo com uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de a relação *inoculum* : pó de térmitas estar compreendido de 0.1% (v:v) a 10% (v:v), preferencialmente

0.1% (v:v) a 5% (v:v) e mais preferencialmente de 0.1% (v:v) a 1% (v:v).

9. Uso, de acordo com uma das reivindicações 1 a 8, caracterizado pelo fato de a relação *inoculum* fúngico: substrato de *inoculum* estar compreendida de 1% (v:v) a 10% (v:v), preferencialmente de 1% (v:v) a 5% (v:v) e valer mais preferencialmente 1% (v:v).

10. Uso, de acordo com uma das reivindicações 1 a 9, caracterizado pelo fato de a relação pó de térmites : substrato de inoculum estar compreendida de 1% (v:v) a 10% (v:v), preferencialmente de 1% (v:v) a 5% (v:v) e valer mais preferencialmente 1% (v:v).

11. Uso, de acordo com uma das reivindicações 1 a 3 e 6 a 10, notadamente de cogumelo endomicoriziano, em espaços destinados às culturas, notadamente de cereais, remexidas, de húmus, frutíferas ou hortícolas e preferencialmente de húmus, frutíferas ou hortícolas.

12. Uso, de acordo com uma das reivindicações 1 ou 2 e 4 a 10, caracterizado pelo fato de ser notadamente de cogumelo ectomicoriziano, em espaços destinados às culturas florestais.

13. Uso, de acordo com uma das reivindicações 1 a 10, , caracterizado pelo fato de ser notadamente de cogumelo endomicoriziano e ectomicoriziano, em espaços destinados às culturas florestais, notadamente as essências lignosas dos gêneros

Casuarina, Allocasuarina, Eucaliptos e Acácias de origem australiana.

14. Composição, caracterizada pelo fato de compreender:

5 a. um *inoculum* fúngico que compreende pelo menos um cogumelo endomicoriziano do gênero *Glomus*, notadamente escolhido dentre *Glomus mosseae*, *Glomus fasciculatus*, *Glomus aggregatum*, *Glomus intraradices* e preferencialmente *Glomus intraradices*;

10 b. pó de térmitas, o tamanho das partículas desse pó de térmitas estando compreendido de 1 μm a 1000 μm e preferencialmente de 1 μm a 500 μm ;

a relação *inoculum* fúngico : pó de térmitas estando compreendido de 0.1% (v:v) a 10% (v:v),
15 preferencialmente 0.1% (v:v) a 5% (v:v) e mais preferencialmente de 0.1% (v:v) a 1% (v:v).

15. Composição, de acordo com a reivindicação 14, caracterizada pelo fato de o *inoculum* fúngico compreender:

- pelo menos um cogumelo endomicoriziano
20 resultante, por exemplo, do crescimento de uma dose de aproximadamente 2 g de raízes micorizadas desse cogumelo endomicoriziano;

- um suporte de tipo areia;

- uma planta micótrofa.

25 16. Composição, de acordo com uma das reivindicações 14 ou 15, caracterizada pelo fato de compreender:

- a. um *inoculum* fúngico, compreendendo pelo menos um cogumelo endomicoriziano;
 - b. pó de térmitas;
 - c. um substrato escolhido dentre o composto
- 5 proveniente de resíduos de cultura e preferencialmente húmus, a areia ou uma mistura de areia ou de composto, a relação pó de térmitas: substrato estando compreendido de 1% (v:v) a 10% (v:v), preferencialmente 1% (v:v) a 5% (v:v) e vale mais preferencialmente de 1% (v:v) e a relação *inoculum* fúngico :
- 10 substrato estando compreendido de 1% (v:v) a 10% (v:v), preferencialmente de 1% (v:v) a 5% (v:v) e valendo mais preferencialmente 1% (v:v).

17. Composição, caracterizada pelo fato de compreender:

- 15 a. um *inoculum* fúngico que compreende pelo menos um cogumelo ectomicoriziano do gênero *Pisolithus*, notadamente *Pisolithus albus*, *Pisolithus tinctorius*, ou do gênero *Scleroderma*, notadamente escolhido dentre *Scleroderma dyctiosporum*, *Scleroderma verrucosum* e preferencialmente
- 20 *Scleroderma dyctiosporum*.
- b. pó de térmitas, o tamanho das partículas desse pó estando compreendido de 1 µm a 1000 µm e preferencialmente de 1 µm a 500 µm;
- c. um substrato escolhido dentre a areia, o
- 25 composto proveniente de resíduos de cultura e preferencialmente de húmus, ou uma mistura de areia e de composto,

a relação *inoculum* fúngico: pó de térmitas estando compreendida de 0.1% (v:v) a 10% (v:v), preferencialmente de 0.1% (v:v) a 5% (v:v) e mais preferencialmente de 0.1% (v:v) a 1% (v:v), e

5 a relação *inoculum* fúngico : substrato estando compreendida de 1% (v:v) a 10% (v:v), preferencialmente de 1% (v:v) a 5% (v:v) e valendo mais preferencialmente 1% (v:v), e

a relação de pó de térmitas : substrato estando compreendida de 1% (v:v) a 10% (v:v), e preferencialmente de 10 1% (v:v) a 5% (v:v) e valendo mais preferencialmente 1% (v:v),

sob reserva que pelo menos uma das duas relações, *inoculum* fúngico : substrato ou pó de térmitas: substrato, seja inferior a 10% (v:v) e preferencialmente que pelo menos um desses dois suportes esteja compreendido de 1% (v:v) 15 a 5% (v:v).

18. Composição, de acordo com a reivindicação 17, caracterizada pelo fato de o *inoculum* fúngico compreender:

- pelo menos um cogumelo ectomicoriziano, resultante, por exemplo, do crescimento de uma dose de 10 mg de 20 peso seco de biomassa de cogumelo ectomicoriziano;

- um suporte turba-vermiculita (1:4, v:v) ou esferas de algenato de cálcio.

19. Composição, caracterizada pelo fato de compreender:

25 a. um *inoculum* fúngico que compreende um cogumelo endomicoriziano do gênero *Glomus*, notadamente

escolhido dentre *Glomus mosseae*, *Glomus fasciculatus*, *Glomus aggregatum*, *Glomus intraradices* e preferencialmente *Glomus intraradices* e um cogumelo ectomicoriziano do gênero *Pisolithus*, *Pisolithus albus*, *Pisolithus tinctorius*, ou do gênero
 5 *Scleroderma*, notadamente escolhido dentre *Scleroderma dyctiosporum*, *Scleroderma verrucosum* e preferencialmente *Scleroderma dyctiosporum*;

b. pó de térmites, o tamanho das partículas desse pó estando compreendido de 1 µm a 1000 µm e
 10 preferencialmente de 1 µm a 500 µm,

a relação *inoculum* fúngico : pó estando compreendido de 0.1% (v:v) a 10% (v:v), preferencialmente 0.1% (v:v) a 5% (v:v) e mais preferencialmente de 0.1% (v:v) a 1% (v:v).

15 20. Composição, de acordo com a reivindicação 19, caracterizada pelo fato de o *inoculum* fúngico compreender:

- pelo menos um cogumelo endomicoriziano resultante, por exemplo, do crescimento de uma dose de aproximadamente 2 g de raízes micorizadas desse cogumelo
 20 endomicoriziano e um cogumelo ectomicoriziano resultante, por exemplo, do crescimento de uma dose de 10 mg de peso seco de biomassa de cogumelo ectomicoriziano;

- um suporte de tipo areia em associação com uma planta micótrofa para o cogumelo endomicoriziano e um
 25 suporte do tipo turba-vermiculita (1:4, v:v) ou esferas de alginato de cálcio para o cogumelo ectomicoriziano.

21. Composição, de acordo com uma das reivindicações 19 ou 20, caracterizada pelo fato de compreender:

a. um *inoculum* fúngico;

b. o pó de térmitas;

5 c. um substrato escolhido dentre o composto proveniente de resíduos de cultura e preferencialmente de húmus, areia, ou uma mistura de areia e de composto,

a relação pó de térmitas : substrato estando compreendida de 1% (v:v) a 10% (v:v), preferencialmente de 1% (v:v) a 5% (v:v) e valendo mais preferencialmente 1% (v:v) e a relação *inoculum* fúngico : substrato estando compreendida de 1% (v:v) a 10% (v:v), preferencialmente de 1% (v:v) a 5% (v:v) e valendo mais preferencialmente 1% (v:v).

22. Composição, de acordo com uma das reivindicações 14 a 21, caracterizada pelo fato de o pó de térmita ser proveniente de térmitas do gênero *Macrotermes* e preferencialmente do gênero *Macrotermes subhyalinus*.

23. Processo de estímulo da micorização em espaços destinados às culturas, nos quais uma mistura de *inoculum* fúngico e de pó de térmita eventualmente moído foi introduzida, caracterizado pelo fato de que o *inoculum* fúngico é preparado por crescimento de pelo menos um cogumelo endomicoriziano com suporte ou por crescimento de pelo menos um cogumelo ectomicoriziano sobre um suporte e esse *inoculum* sendo utilizado em uma dose por elemento unitário de cultura,

notadamente grão ou planta, de aproximadamente pelo menos 10 vezes inferior à dose utilizada na ausência de pó de térmitas.

24. Processo, de acordo com a reivindicação 23, caracterizado pelo fato de a dose de *inoculum* fúngico por elemento unitário de cultura estar compreendida de 0.01 a 1 ml e preferencialmente de 0.01 a 0.1 ml.

25. Processo, de acordo com uma das reivindicações 23 ou 24, caracterizado pelo fato de o *inoculum* fúngico ser um *inoculum* fúngico específico do endomicoriziano, compreendendo pelo menos um cogumelo endomicoriziano do gênero *Glomus*, notadamente escolhido dentre *Glomus mosseae*, *Glomus fasciculatus*, *Glomus aggregatum*, *Glomus intraradices* e preferencialmente *Glomus intraradices*.

26. Processo, de acordo com uma das reivindicações 23 ou 24, caracterizado pelo fato de o *inoculum* fúngico ser um *inoculum* fúngico específico do ectomicoriziano que compreendendo pelo menos um cogumelo ectomicoriziano do gênero *Pisolithus*, notadamente *Pisolithus albus*, *Pisolithus tinctorius*, ou do gênero *Scleroderma*, notadamente escolhido dentre *Scleroderma dyctiosporum*, *Scleroderma verrucosum* e preferencialmente *Scleroderma dyctiosporum*.

27. Processo, de acordo com uma das reivindicações 23 ou 24, caracterizado pelo fato de o *inoculum* fúngico ser um *inoculum* que compreende pelo menos um cogumelo endomicoriziano do gênero *Glomus*, notadamente escolhido dentre *Glomus mosseae*, *Glomus fasciculatus*, *Glomus*

aggregatum, *Glomus intraradices* e preferencialmente *Glomus intraradices* e pelo menos um cogumelo ectomicoriziano do gênero *Pisolithus*, notadamente *Pisolithus albus*, *Pisolithus tinctorius*, ou do gênero *Scleroderma*, notadamente escolhido
5 dentre *Scleroderma dyctiosporum*, *Scleroderma verrucosum* e preferencialmente *Scleroderma dyctiosporum*.

28. Processo, de acordo com uma das reivindicações 23 a 27, caracterizado pelo fato de o tamanho das partículas desse pó estar compreendido de 1 μm a 1000 μm e
10 preferencialmente de 1 μm a 500 μm .

29. Processo, de acordo com uma das reivindicações 23 a 28, caracterizado pelo fato de o pó de térmitas ser proveniente de térmitas do gênero *Macrotermes* e preferencialmente *Macrotermes subhyalinus*.

15 30. Processo de estímulo da micorização em espaços destinados às culturas, de acordo com uma das reivindicações 23 a 29, caracterizado pelo fato de uma mistura de *inoculum* fúngico e de pó de térmitas, eventualmente moído, em associação com um substrato ter sido introduzida, o *inoculum*
20 fúngico e o pó de térmitas tendo sido misturados com um substrato e esse *inoculum* fúngico sendo preparado por crescimento de um cogumelo micoriziano sobre um suporte.

31. Processo, de acordo com uma das reivindicações 23 a 30, caracterizado pelo fato de a relação
25 *inoculum* : pó de térmitas estar compreendida de 0.1% (v:v) a

10% (v:v), preferencialmente 0.1% (v:v) a 5% (v:v) e mais preferencialmente de 0.1% (v:v) a 1% (v:v).

32. Processo, de acordo com uma das reivindicações 30 a 31, caracterizado pelo fato de o *inoculum*
5 fúngico ser preparado por crescimento de pelo menos um cogumelo endomicoriziano na dose útil de aproximadamente 2 g de raízes micorizadas sobre um suporte constituído de areia em associação com uma planta micótrofa ou por crescimento de pelo menos um cogumelo ectomicoriziano na dose útil de
10 aproximadamente 10 mg de peso seco de biomassa de cogumelo ectomicoriziano sobre um suporte constituído de turba-vermiculita (1:4, v:v) ou de esferas de alginato de cálcio.

33. Processo, de acordo com uma das reivindicações 30 a 32, caracterizado pelo fato de o *inoculum*
15 fúngico e o pó de térmitas serem misturados com o substrato, esse substrato sendo escolhido dentre a areia, e o composto proveniente de resíduos de cultura e preferencialmente de húmus, ou de uma mistura de areia e de composto,

a relação *inoculum* fúngico : substrato estando
20 compreendido de 1% (v:v) e 10% (v:v), e preferencialmente 1% (v:v) e 5% (v:v) e valendo preferencialmente 1% (v:v) e a relação pó de térmitas : substratos estando compreendida de 1% (v:v) e 10% (v:v), e preferencialmente 1% (v:v) a 5% (v:v) e valendo preferencialmente 1% (v:v).

25 34. Processo, de acordo com uma das reivindicações 30 a 33, caracterizado pelo fato de comportar uma

etapa de introdução de um elemento unitário de cultura em espaços destinados às culturas, contendo previamente um *inoculum* fúngico e o pó de térmitas, esse elemento unitário de cultura sendo notadamente um grão ou uma planta.

5 35. Processo, de acordo com uma das reivindicações 30 a 34, caracterizado pelo fato de compreender as seguintes etapas:

a. preparo do *inoculum* fúngico por crescimento de pelo menos um cogumelo endomicoriziano e de pelo menos
10 um cogumelo ectomicoriziano sobre um suporte;

b. mistura do pó de térmitas, eventualmente moído, e do *inoculum* fúngico com substrato;

c. introdução da mistura obtida na etapa precedente nos espaços destinados às culturas na dose por
15 elemento unitário de cultura 0.01a 1 ml de *inoculum* fúngico e preferencialmente de 0.01a 0.1 ml de *inoculum* fúngico;

d. introdução de um elemento unitário de cultura, notadamente de um grão a cultivar ou de uma planta, em espaços destinados às culturas contendo a mistura.

FIGURA 1

◆ : Proporção do inoculum fúngico (PIF) 1% (v/v). PIF 5% (v/v): PIF 10% (v/v)

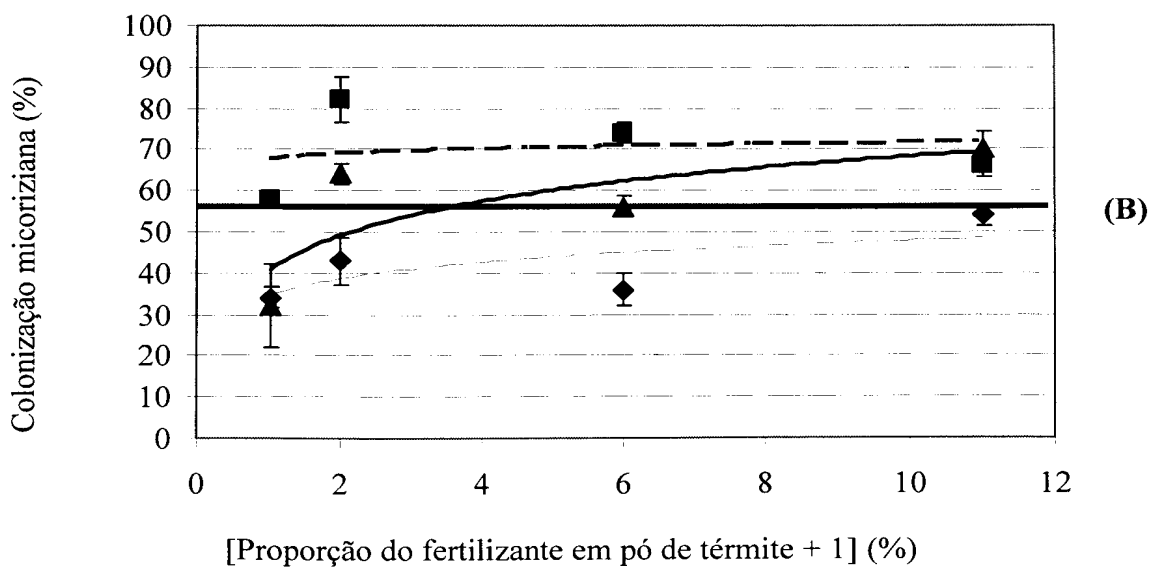
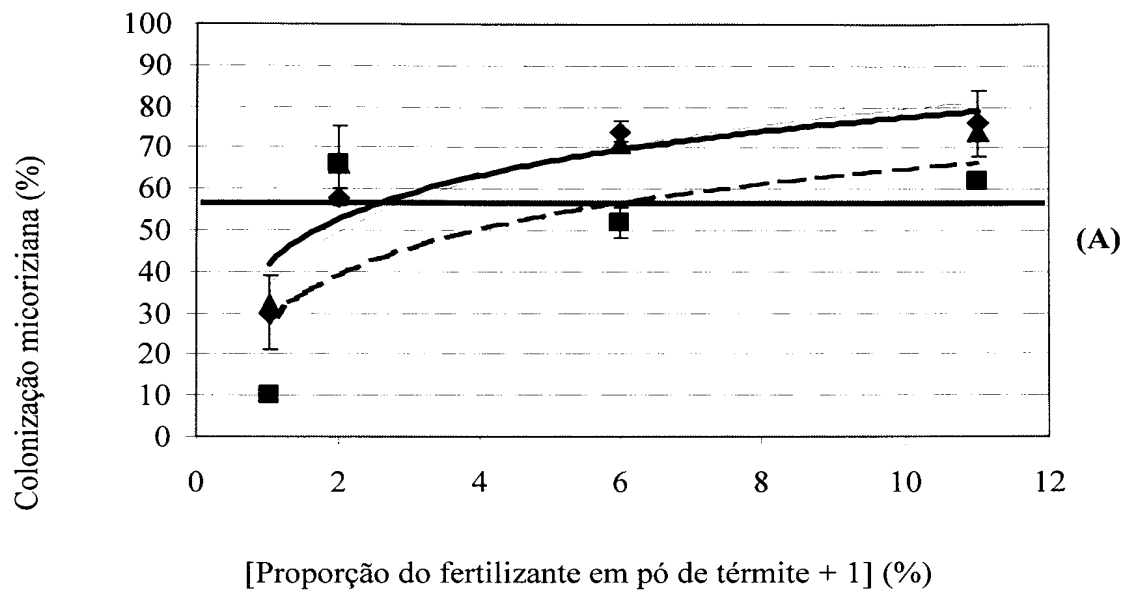


FIGURA 1 (continuação)

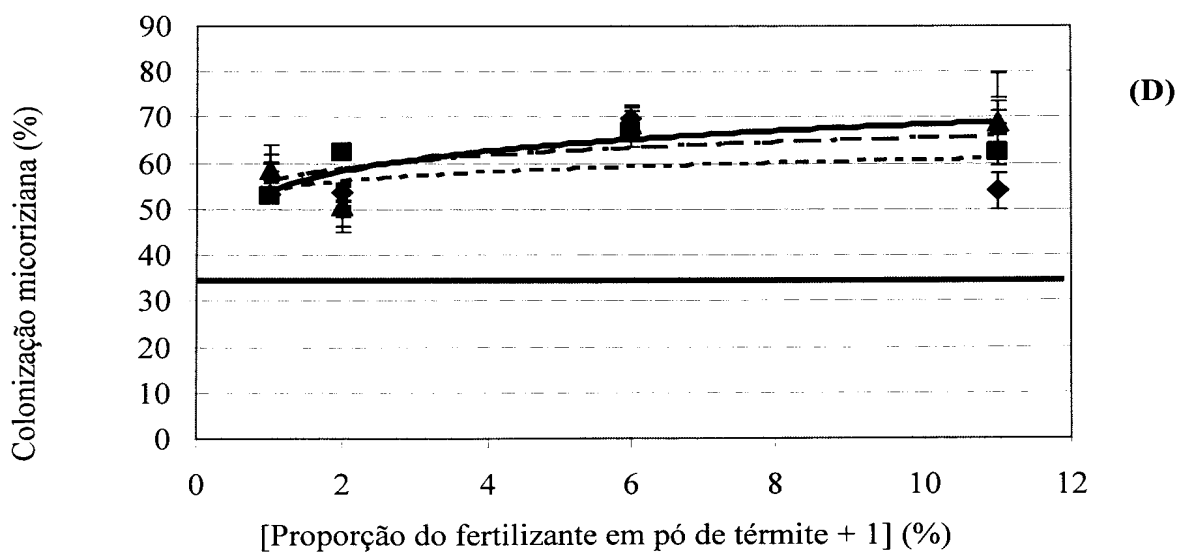
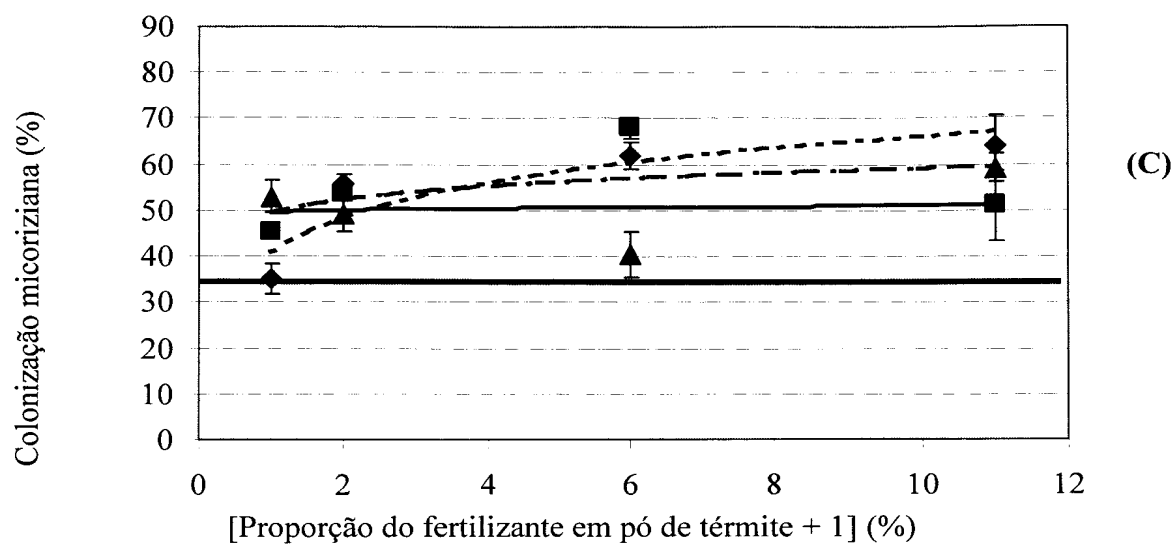


FIGURA 2

■: Proporção do inoculum fúngico (PIF) 1% (v/v). PIF 5% (v/v): PIF 10% (v/v)

■: PAT = 1% (v/v). ■: PAT = 5% (v/v). ■: PAT = 10 (v/v).

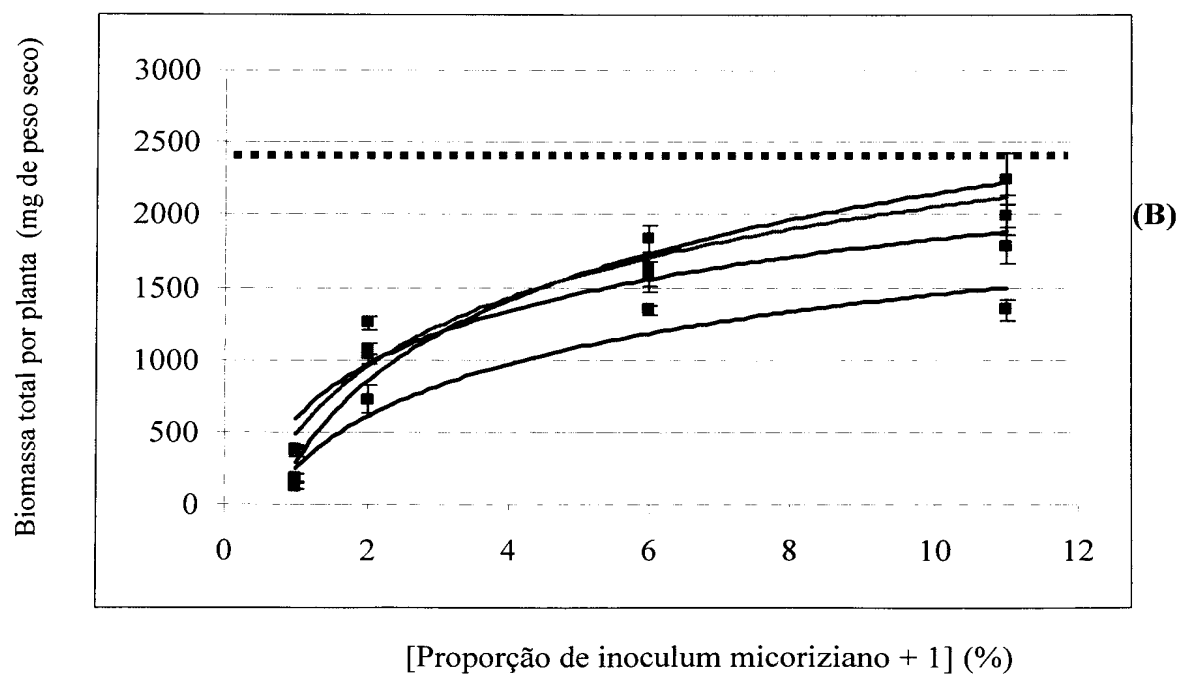
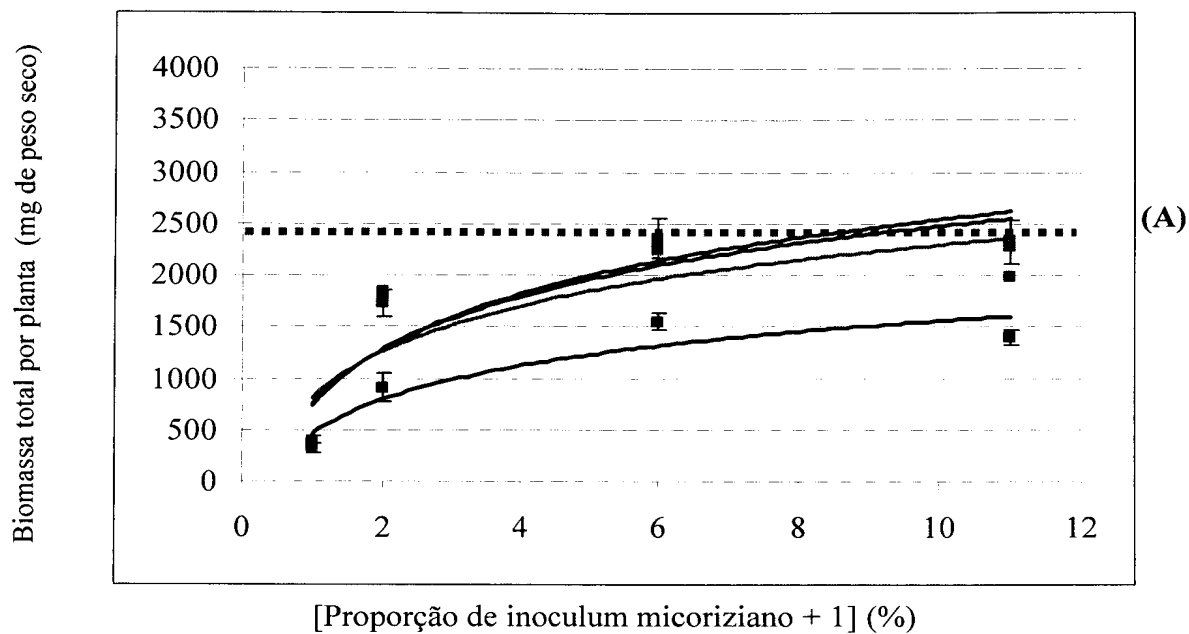
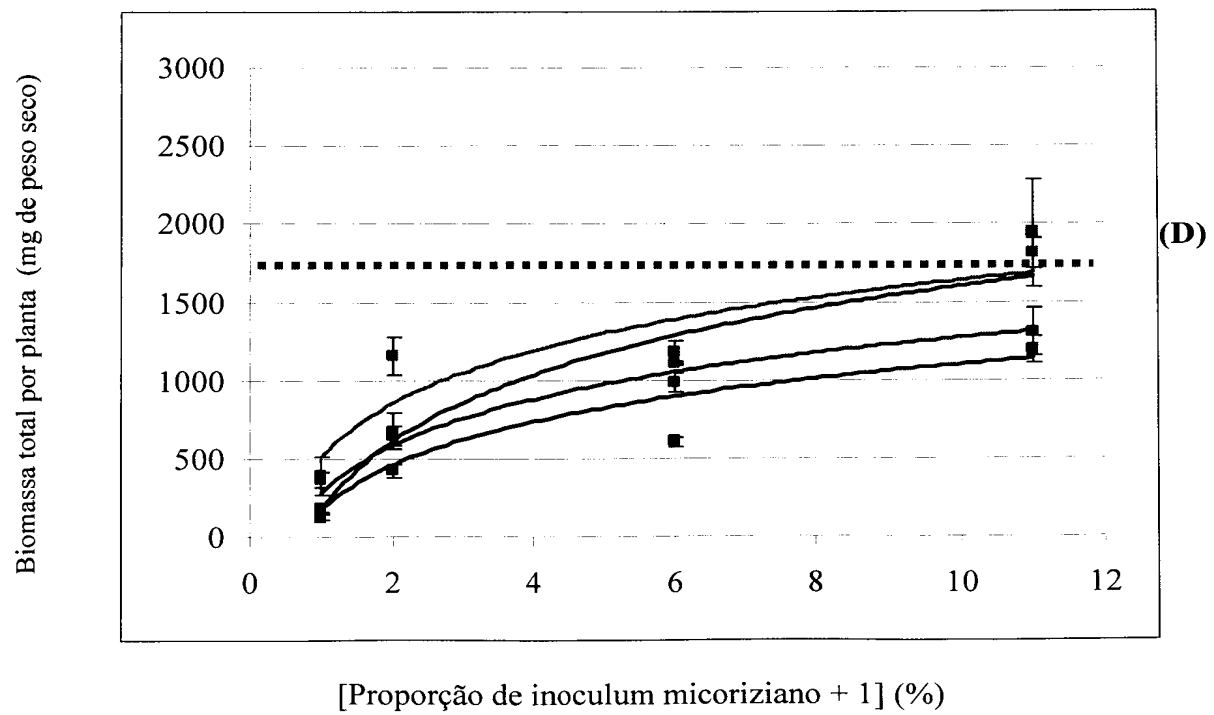
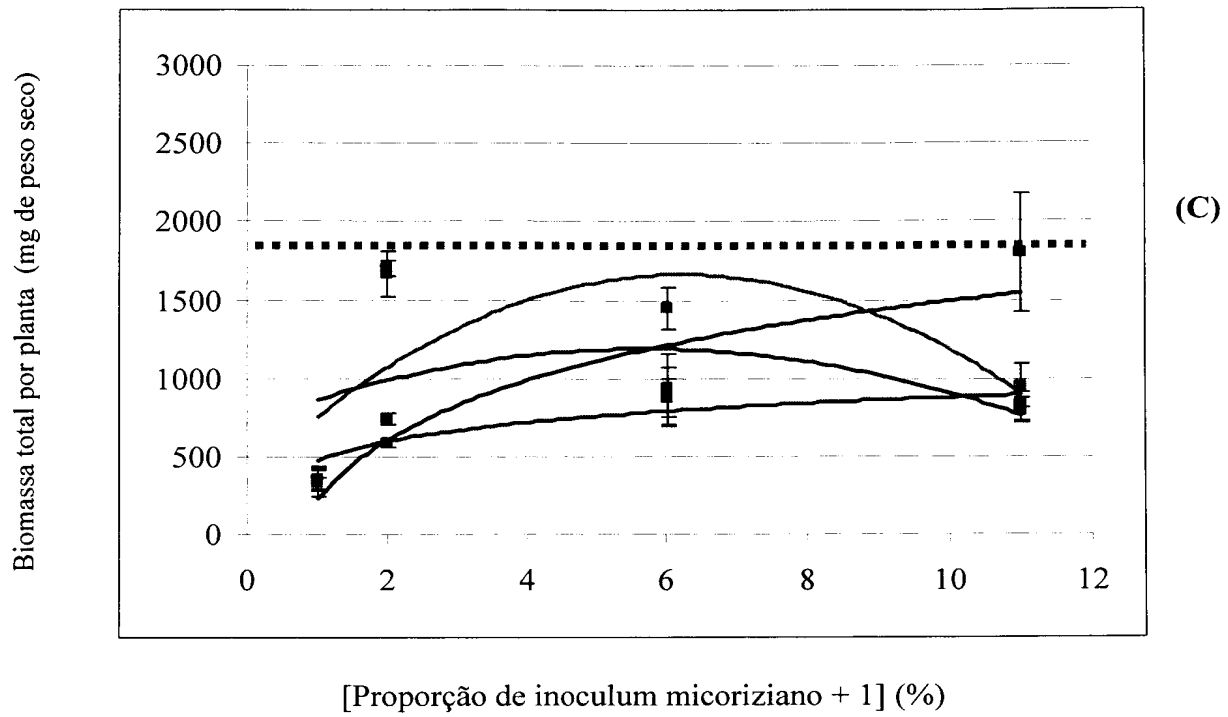


FIGURA 2 (continuação)



RESUMO

Patente de Invenção “NOVAS
COMPOSIÇÕES DE *INOCULA* FÚNGICAS, O
RESPECTIVO PROCESSO DE PREPARO E A
5 RESPECTIVA APLICAÇÃO DO CRESCIMENTO DAS
CULTURAS.”.

Trata-se de novas composições de *inocula*
fúngicas, como agente estimulante da micorização de culturas,
assim como sua aplicação, e o respectivo processo de preparo.