

(12) PEDIDO INTERNACIONAL PUBLICADO SOB O TRATADO DE COOPERAÇÃO EM MATÉRIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organização Mundial da Propriedade Intelectual  
Secretaria Internacional



(43) Data de Publicação Internacional  
25 de Junho de 2020 (25.06.2020)

WIPO | PCT

(10) Número de Publicação Internacional  
WO 2020/124178 A1

(51) Classificação Internacional de Patentes:  
A01N 63/00 (2006.01) C12R 1/07 (2006.01)  
C12N 1/20 (2006.01)

fogo, 13020-081 CAMPINAS / SP (BR). **RIBEIRO, Iron Amoreli De Figueiredo**; Rua Comendador Antonio Nagib Ibrahim 140 Apto 13c - Nucleo Hab Brigadeiro Faria Lima, 13330-350 INDAIATUBA/SP (BR).

(21) Número do Pedido Internacional:  
PCT/BR2019/050051

(74) Mandatário: **BEERRE ASSESSORIA EMPRESARIAL LTDA**; Av Barão de Itapura, 3236, Taquaral, 13076-629 Campinas (BR).

(22) Data do Depósito Internacional:  
21 de Fevereiro de 2019 (21.02.2019)

(25) Língua de Depósito Internacional: Português

(81) Estados Designados (*sem indicação contrária, para todos os tipos de proteção nacional existentes*): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(26) Língua de Publicação: Português

(30) Dados Relativos à Prioridade:  
BR102018076265-6  
17 de Dezembro de 2018 (17.12.2018) BR

(71) Requerente: **AGRIVALLE BRASIL INDUSTRIA E COMÉRCIO DE PRODUTOS AGRÍCOLAS LTDA** [BR/BR]; Av Tranquilo Gianini 1090 - Distrito Industrial, 13320-000 SALTO / SP (BR).

(72) Inventores: **MARTINS, Thales Facanali**; Rua Das Sibipirunas 70 - Portal Das Acácias, 13333-515 INDAIATUBA / SP (BR). **BERNARDO, Eduardo Roberto De Almeida**; Rua Borboleta Branca 336, 13331-284 INDAIATUBA / SP (BR). **VIEIRA, Bernardo Albuquerque Regina De Matto**; Rua Alaor Malta Guimarães 70 Apto 81 - Bota-

(84) Estados Designados (*sem indicação contrária, para todos os tipos de proteção regional existentes*): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasiático (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), Europeu (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,

(54) Title: COMPOSITION CONTAINING MICROORGANISMS FOR PROMOTING GROWTH AND REDUCING HYDRIC STRESS IN CULTIVATED PLANTS AND USE THEREOF

(54) Título: COMPOSIÇÃO CONTENDO MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO E REDUÇÃO DE ESTRESSE HÍDRICO EM PLANTAS CULTIVADAS E USO DA MESMA

(57) Abstract: The present patent of invention relates to multi-functional biological compositions for reducing hydric stress and promoting growth in cultivated plants, for use as an inoculant, as a soil conditioner, as a biostimulant, for phosphorus solubilization and for bioremediation in agricultural areas; it particularly relates to compositions containing mixtures of additives and excipients having at least 2 (two) or more species of *Bacillus* or 2 (two) or more strains of a single species, or the mutants thereof, concomitantly with additives and excipients, in biological compositions with properties for reducing hydric stress and promoting growth in cultivated plants, for use as an inoculant, as a biological soil conditioner, as a biostimulant, for phosphorus stabilization and for bioremediation in agricultural areas, added to the coating/encrustation used in industrial or non-industrial seed treatment, applied in furrows, using a guided boom or by other application means. Pertaining to the technical sector of biotechnology, these compositions increase the efficiency of conduction in cultivated plants and ploughed land by using mechanisms of action that are different from and complementary to the compositions of the above-mentioned microorganisms.

(57) Resumo: Trata-se a presente patente de invenção de composições biológicas de funções múltiplas para a redução de estresse hídrico, promoção de crescimento e inoculantes em plantas cultivadas, condicionador de solos, biostimulantes, solubilizador de fósforo e biorremediação de áreas agricultáveis, mais particularmente trata-se de composições contendo misturas de aditivos e excipientes a pelo menos 2 (duas) ou mais espécies de *Bacillus* ou 2 (duas) ou mais cepas de uma mesma espécie, ou seus mutantes, concomitantemente com aditivos e excipientes, em composições biológicas com propriedades para a redução do estresse hídrico, promoção de crescimento e inoculantes em plantas cultivadas, condicionamento biológico de solos, biostimulantes, solubilizador de fósforo e biorremediação de áreas agricultáveis, adicionados no revestimento/incrustação do tratamento de sementes de forma industrial ou não, aplicação em sulco, barra direcionada ou outras vias de aplicação. Pertencente ao setor técnico de biotecnologia, essas composições ampliam a eficiência na condução das plantas cultivadas e lavouras por utilizar mecanismos de ação diferentes e complementares das composições dos microrganismos destacadas acima.

WO 2020/124178 A1

MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM,  
TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,  
KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Publicado:**

- *com relatório de pesquisa internacional (Art. 21(3))*
- *em preto e branco; o pedido internacional tal como depositado contém cores ou níveis de cinza e pode ser baixado do PATENTSCOPE*

## **COMPOSIÇÃO CONTENDO MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO E REDUÇÃO DE ESTRESSE HÍDRICO EM PLANTAS CULTIVADAS E USO DA MESMA**

[001] Trata-se a presente patente de invenção de composições biológicas de funções múltiplas para a redução de estresse hídrico, promoção de crescimento e inoculantes em plantas cultivadas, condicionador de solos, biostimulantes, solubilizador de fósforo e biorremediação de áreas agricultáveis, mais particularmente trata-se de composições contendo misturas de aditivos e excipientes a pelo menos 2 (duas) espécies de *Bacillus* ou 2 (duas) ou mais cepas de uma mesma espécie em combinação entre eles ou parte deles, em adição ou não à óleos essenciais de plantas e/ou extratos de plantas, polímeros/excipientes em formulações para pulverização, pulverização de sulco de plantio, drench, revestimento (industrial ou não), tratamento (industrial ou não) e incrustação (industrial ou não) de sementes das plantas cultivadas. Pertencente ao setor técnico de biotecnologia, essas composições ampliam a eficiência na condução das plantas cultivadas e lavouras por utilizar mecanismos de ação diferentes e complementares das composições dos microrganismos destacadas acima.

### **ESTADO DA TÉCNICA**

[002] No atual cenário agrícola mundial, os ganhos de produção têm sido vinculados a aumentos gradativos de produtividade sem que ocorra um aumento na área agricultável. Esses aumentos de produtividade vêm sendo obtidos por meio de avanços significativos nas técnicas de cultivo, utilização de variedades mais adaptadas a fatores bióticos e abióticos, adequação do requerimento nutricional das plantas e, não obstante, pela mitigação dos danos causados por pragas agrícolas. Esses conceitos estão diretamente relacionados à lei do mínimo, onde a produção será limitada pelo insumo que estiver em

concentração menor àquela requerida pela planta ou mesmo a eficiência no controle de pragas e doenças para manutenção da produtividade das culturas. Diversas técnicas podem ser empregadas, com maior ou menor grau de eficácia.

**[003]** Para a cultura do milho, segunda cultura mais plantada no país, sendo o Brasil o 3º maior produtor mundial (FAOSTAT, 2017), o fator climático tem grande influência sobre sua produtividade e o regime pluviométrico é responsável por grandes oscilações de produção no Brasil (BERGAMASHI & MATZENAUER, 2014). Dados da CONAB (2015) mostram que durante a 2ª safra do ano agrícola de 2014/2015 houve aumento de 14,1% na produção em relação ao ano anterior, influenciado pelo bom regime de chuvas durante o desenvolvimento da cultura. No entanto, situação contrária foi observada na 2ª safra do ano agrícola de 2015/2016, com queda de 8,4% na produção, apesar do aumento na área plantada, fato ocorrido devido à estiagem durante o período de emergência e desenvolvimento da cultura (CONAB, 2016).

**[004]** MAGALHÃES et al. (1996) indicam que a necessidade hídrica da cultura do milho para completar seu ciclo é dependente de fatores climáticos, como a temperatura e evapotranspiração, sendo que os períodos de maior exigência hídrica ocorrem durante a emergência, florescimento e enchimento de grãos (FRATTINI, 1975). Portanto, o impacto do estresse hídrico na planta irá variar de acordo com seu estágio fenológico.

**[005]** Diversos autores avaliaram o efeito da falta de água no rendimento da cultura em diferentes intensidades e épocas de desenvolvimento do milho. Durante o florescimento, o estresse hídrico de dois dias afetou em 20% o rendimento da cultura, enquanto que o estresse durante quatro a oito dias afetou em mais de 50% (MAGALHÃES &

DURÃES, 2006). Resultados semelhantes foram obtidos por PANDEY et al. (2000), onde o estresse de sete dias durante a emissão da inflorescência masculina afetou em 50% a produção, enquanto o mesmo estresse ocorrido no período pós polinização acarretou em perdas entre 25 a 32%. Perdas também são observadas quando o estresse ocorre durante o estágio vegetativo, ocasionando redução de até 32% no acúmulo de matéria seca (ÇAKIR, 2004). Os danos ocasionados pelo estresse hídrico ocorridos nos estágios iniciais de desenvolvimento são irreversíveis e tem impacto sobre a produtividade e quanto mais próximo do florescimento, maiores as perdas na produção (BALDO, 2007).

**[006]** Uma alternativa viável e com resultados significativos é o uso de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP). Diversos mecanismos associados às RPCPs, que auxiliam as plantas a suportarem os efeitos do estresse hídrico foram descritos, sendo eles: solubilização e fixação de nutrientes, produção de sideróforos, produção de hormônios vegetais, produção de compostos voláteis, alteração na morfologia e arquitetura das raízes, atividade da ACC deaminase, acumulação de osmólitos, ação sobre o sistema antioxidante da planta e produção de exopolissacarídeos (EPS) (ALAMI et al., 2000; ARORA et al., 2001; HUSSAIN et al., 2009; VURUKONDA et al., 2016).

**[007]** Dentre os mecanismos descritos, a produção de EPS por bactérias tem sido amplamente estudada, porém, visando a aplicação industrial, em especial, nas indústrias alimentícias e farmacêuticas, devido suas características emulsificantes e espessantes (KUMAR et al., 2007). Contudo, dada essas características, a utilização de bactérias produtoras de EPS na agricultura tem despertado interesse, uma vez que podem atuar como importante ferramenta na mitigação dos estresses abióticos.

## OBJETIVOS DA INVENÇÃO

[008] Assim, o objetivo da presente invenção é aplicar composições efetivas que proporcionem redução de estresse hídrico, promoção de crescimento e inoculantes em plantas cultivadas, condicionador de solos, biostimulantes, solubilizador de fósforo e biorremediação de áreas agricultáveis em adição nos polímeros e/ou componentes do tratamento, revestimento ou incrustação de sementes (industrial ou não) das plantas cultivadas, aplicação em sulco, barra direcionada, até mesmo em outras vias de aplicação, não se limitando a *Coffea* spp (*Coffea arabica*, *Coffea canefora*, *Coffea robusta*), *Glycine max*, *Zea mays*, *Gossypium hirsutum*, hortaliças (*Solanum lycopersicum*, *Allium cepa*, *Lactuca sativa*, *Daucus carota*, *Capsicum annuum Group*), florestais (*Eucalyptus* spp., *Tectona grandis*, *Hevea brasiliensis*, *Pinus* sp.), *Nicotiana tabacum*, ornamentais, frutíferas (*Citrus* spp., *Malus* spp., *Carica papaya*, *Vitis* spp., *Cucumis melo*, *Prunus persica*, *Passiflora edulis*), *Brachiaria* spp. (*Brachiaria brizantha*, *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria humidicola*, *Brachiaria mutica*, *Brachiaria ruziziensis*, *Brachiaria arrecta*, *Brachiaria dictyneura*), *Panicum* spp. (*Panicum maximum*), *Sorghum* spp., *Pennisetum americanum*, crotalárias (*Crotalaria juncea*, *Crotalaria spectabilis*, *Crotalaria ochroleuca*, *Crotalaria paulina*, *Crotalaria breviflora*), dentre outras. Essas composições envolvem o uso de 2 (dois) ou mais microrganismos ou 2 (duas) ou mais cepas de uma mesma espécie de *Bacillus*, não se limitando a *Bacillus aryabhatai*, *Bacillus velezensis*, *Bacillus agri*, *Bacillus toyonensis*, *Bacillus aizawai*, *Bacillus albolactis*, *Bacillus firmus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus endoparasiticus*, *Bacillus endorhythmos*, *Bacillus kustaki*, *Bacillus lacticola*, *Bacillus lactimorbus*, *Bacillus lactis*, *Bacillus laterosporus*, *Bacillus lentimorbus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus medusa*, *Bacillus metiens*, *Bacillus natto*,

*Bacillus nigrificans*, *Bacillus popilliae*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus siamensis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefasciens*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus flexus*, *Bacillus pseudomycooides*, *Bacillus natto*, dentre outros.

#### DESCRIÇÃO RESUMIDA DA INVENÇÃO

[009] A presente invenção refere-se a composições contendo misturas de pelo menos 2 (duas) ou mais espécies de *Bacillus* ou 3 (duas) ou mais cepas de uma mesma espécie, ou seus mutantes, concomitantemente com aditivos e excipientes, com exceção da patente em uso US 20150050258A1, em composições biológicas com propriedades para a redução do estresse hídrico, promoção de crescimento e inoculantes em plantas cultivadas, condicionamento biológico de solos, biostimulantes, solubilizador de fósforo e biorremediação de áreas agricultáveis, adicionados no revestimento/incrustação do tratamento de sementes de forma industrial ou não, aplicação em sulco, barra direcionada ou outras vias de aplicação.

#### DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[010] A composição contendo microrganismos promotores de crescimento e redução de estresse hídrico em plantas cultivadas, compreende: 1,0 a 20,0% de pelo menos 2 (duas) ou mais espécies de *Bacillus* ou 2 (duas) ou mais cepas de uma mesma espécie, em misturas e combinação entre eles ou parte deles (em unidades formadoras de colônia, u.f.c.);

1,0 a 20,0% de Aditivos;

1,0 a 97,0% de Excipientes.

[011] Opcionalmente poderão ser adicionados a composição óleos essenciais de plantas e/ou extratos de plantas e/ou vegetais, conforme segue:

5,0 a 10,0% de óleos essenciais;

5,0 a 10,0% de extratos de plantas.

[012] Os isolados foram identificados e classificados pela Coleção Brasileira de Microrganismos de Ambiente e Indústria (CBMAI/UNICAMP), onde encontram-se depositados.

[013] Os representantes dos gêneros de *Bacillus* são do grupo que consistem nas espécies de: *Bacillus aryabhattai*, *Bacillus velezensis*, *Bacillus agri*, *Bacillus toyonensis*, *Bacillus aizawai*, *Bacillus albolactis*, *Bacillus firmus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus endoparasiticus*, *Bacillus endorhythmos*, *Bacillus kustaki*, *Bacillus lacticola*, *Bacillus lactimorbus*, *Bacillus lactis*, *Bacillus laterosporus*, *Bacillus lentimorbus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus medusa*, *Bacillus metiens*, *Bacillus natto*, *Bacillus nigrificans*, *Bacillus popilliae*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus siamensis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefasciens*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus flexus*, *Bacillus pseudomycooides*, *Bacillus natto*, dentre outros.

[014] Os aditivos podem ser, mas não se limita a dispersantes selecionados do grupo consistindo de polímeros iônicos solúveis em água, aminoácidos, extratos de algas, compostos de origem natural, polímeros aniônicos solúveis em água, surfactantes selecionados do grupo consistindo de surfactantes aniônicos e surfactantes não iônicos e combinações entre eles.

[015] Os excipientes podem ser, não se limitando a, do grupo que consiste em: sílicas, talco, bentonita, carboidratos, carbonatos, caseína, soro de leite e derivados de leite e combinações entre eles.

[016] Os óleos essenciais de plantas ou extratos de plantas são extraídos e/ou derivados de sementes e/ou plantas, não se limitando a *Ricinus communis*, *Crotalaria juncea*, *Chenopodium ambrosioides*, *Azadirachta indica*, *Verbena officinalis*, *Erythrina mulungu*, *Quassia amara*, *Bidens pilosa*, *Plantago lanceolata*, *Senecio brasiliensis*, *Lantana camara*, *Tagetes*

*patula, Lantana montevidensis, Eucalyptus spp., Lantana montevidensis, Lantana camara, Senecio brasiliensis, Chrysanthemum coronarium, Solanum americanum, Solanum paniculatum Hovenia dulcis, Melia azedarach, Butia eriospatha, Schinus terenbithifolius, Cinnamomum camphora, Conyza bonariensis, Senecio brasiliensis, Bidens pilosa, Amaranthus hybridus, Euphorbia heterophylla, Raphanus sativus, Ipomoea purpurea, Brachiaria plantaginea, Ruta graveolens, Aloysia triphylla, Brassica napus, Mucuna pruriens, Ocimum gratissimum, Lippia sidoides, Croton zehntneri, Mentha piperita, Cymbopogon martinii, Cymbopogon schoenanthus, Piper aduncum, Arisaema franchetianum, Zanthoxylum simulans, Ruta chalepensis, Citrus sinensis, Melaleuca quinquenervia, Cymbopogon citratus, Thymus vulgaris, Piper aduncum, Melaleuca alternifolia, Hesperozygis myrtoides, dentre outras.*

[017] A composição deve ser empregada como formulação em pó molhável. Entretanto, outras formulações contendo esses microrganismos, tais como, suspensão de encapsulado, concentrado dispersível, concentrado emulsionável, emulsão de água em óleo, emulsão de óleo em água, microemulsão, suspensão concentrada, suspo-emulsão, granulado solúvel, concentrado solúvel, pó solúvel, tablete, granulado dispersível, pó molhável, gel emulsionável, gel solúvel em água, grânulo emulsionável, pó emulsionável, dispersão de óleo ou suspensão concentrada em óleo, formulação mista de concentrado solúvel e suspensão concentrada, formulação mista de concentrado soluvel e suspo-emulsão, formulação mista de concentrado solúvel e emulsão de óleo em água, suspensão concentrada dispersível ou miscível em óleo, solução miscível em óleo, pó dispersível em óleo, granulado encapsulado, pó seco, líquido para pulverização eletrostática/eletrodinâmica, granulado, óleo para pulverização/espalhamento,

suspensão a ultrabaixo volume, ultrabaixo volume, microgranulado, pó fino, granulado fino, macrogranulado, encapsulamento, microencapsulamento e nanoencapsulamento também podem ser utilizadas.

[018] O uso da composição poderá ser empregado como pulverização, pulverização de sulco de plantio, drench, no revestimento (industrial ou não), tratamento (industrial ou não) e incrustação (industrial ou não) de sementes das plantas cultivadas, não se limitando a *Coffea* spp (*Coffea arabica*, *Coffea canefora*, *Coffea robusta*), *Glycine max*, *Zea mays*, *Gossypium hirsutum*, hortaliças (*Solanum lycopersicum*, *Allium cepa*, *Lactuca sativa*, *Daucus carota*, *Capsicum annuum Group*), florestais (*Eucalyptus* spp., *Tectona grandis*, *Hevea brasiliensis*, *Pinus* sp.), *Nicotiana tabacum*, ornamentais, frutíferas (*Citrus* spp., *Malus* spp., *Carica papaya*, *Vitis* spp., *Cucumis melo*, *Prunus persica*, *Passiflora edulis*), *Brachiaria* spp. (*Brachiaria brizantha*, *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria humidicola*, *Brachiaria mutica*, *Brachiaria ruziziensis*, *Brachiaria arrecta*, *Brachiaria dictyneura*), *Panicum* spp. (*Panicum maximum*), *Sorghum* spp., *Pennisetum americanum*, crotalárias (*Crotalaria juncea*, *Crotalaria spectabilis*, *Crotalaria ochroleuca*, *Crotalaria paulina*, *Crotalaria breviflora*), dentre outras.

[019] O uso da composição poderá ainda ser empregado com a função de promoção de crescimento, redução de estresse hídrico, bioestimulantes, inoculantes, solubilizador de fósforo e estimulantes de crescimento nas plantas cultivadas, não se limitando a : *Coffea* spp (*Coffea arabica*, *Coffea canefora*, *Coffea robusta*), *Glycine max*, *Zea mays*, *Gossypium hirsutum*, hortaliças (*Solanum lycopersicum*, *Allium cepa*, *Lactuca sativa*, *Daucus carota*, *Capsicum annuum Group*), florestais (*Eucalyptus* spp., *Tectona grandis*, *Hevea brasiliensis*, *Pinus* sp.), *Nicotiana tabacum*, ornamentais, frutíferas (*Citrus* spp., *Malus* spp., *Carica papaya*, *Vitis* spp., *Cucumis melo*,

*Prunus persica*, *Passiflora edulis*), *Brachiaria* spp. (*Brachiaria brizantha*, *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria humidicola*, *Brachiaria mutica*, *Brachiaria ruziziensis*, *Brachiaria arrecta*, *Brachiaria dictyneura*), *Panicum* spp. (*Panicum maximum*), *Sorghum* spp., *Pennisetum americanum*, crotalárias (*Crotalaria juncea*, *Crotalaria spectabilis*, *Crotalaria ochroleuca*, *Crotalaria paulina*, *Crotalaria breviflora*), dentre outras.

[020] A composição tem seu uso empregado com a função de condicionador de solos para todas as culturas e qualquer área agriculturável e adicionalmente com a função de biorremediação de áreas agricultáveis.

#### EXEMPLOS DE OBTENÇÃO

[021] A título de exemplo a composição poderá apresentar as seguintes concentrações:

##### Exemplo 1:

<i>Bacillus velezensis</i> :	1,0 a 20,0%
<i>Bacillus aryabhatai</i> :	1,0 a 20,0%
Aditivos:	1,0 a 20,0%
Excipientes:	97,0 a 40,0%

##### Exemplo 2:

<i>Bacillus aryabhatai</i> :	1,0 a 20,0%
<i>Bacillus licheniformis</i> :	1,0 a 15,0%
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> :	1,0 a 15,0%
Óleo essencial de <i>Melaleuca alternifolia</i>	5,0 a 20,0%
Aditivos:	1,0 a 20,0%
Excipientes:	91,0 a 10,0%

##### Exemplo 3:

<i>Bacillus aryabhatai</i> :	1,0 a 20,0%
<i>Bacillus licheniformis</i> :	1,0 a 15,0%

<i>Bacillus velezensis</i> :	1,0 a 20,0%
Óleo essencial de <i>Azadirachta indica</i>	5,0 a 20,0%
Extrato de <i>Piper aduncum</i>	5,0 a 15,0%
Aditivos:	1,0 a 10,0%
Excipientes:	86,0 a 10,0%

#### Exemplo 4:

<i>Bacillus aryabhatai</i> (cepa 01):	1,0 a 20,0%
<i>Bacillus aryabhatai</i> (cepa 04):	1,0 a 20,0%
Aditivos:	1,0 a 20,0%
Excipientes:	97,0 a 40,0%

#### Exemplo 5:

<i>Bacillus thuringiensis</i>	1,0 a 20,0%
<i>Bacillus aryabhatai</i>	1,0 a 20,0%
Aditivos:	1,0 a 20,0%
Excipientes:	97,0 a 40,0%

### EXEMPLO DE APLICAÇÃO

[022] Composições contendo diferentes proporções e combinações entre os microrganismos gênero *Bacillus*, aminoácidos e seus incipientes foram preparadas para tratamento de semente visando avaliar sua eficiência na redução de estresses abióticos. O exemplo abaixo ilustra, mas não limita o uso dessa composição:

[023] EXEMPLO: Utilização de uma composição biológica no tratamento de sementes de milho (*Zea mays* L.) visando mitigação de danos causados por estresse hídrico.

[024] OBJETIVO: Avaliar, em condições de casa de vegetação, o efeito do tratamento de sementes na cultura do milho com formulações contendo rizobactérias e avaliar seus efeitos na redução de estresse hídrico.

[025] MATERIAL E MÉTODOS: A seleção de isolados com maior potencial de promover crescimento em plantas de milho, sob condições de estresse hídrico, foi realizada a partir da coleção de microrganismos pertencente à empresa Agrivalle Brasil Ind. e Com. de Produtos Agrícolas Ltda., em casa de vegetação e com delineamento estatístico inteiramente casualizado (DIC).

[026] As sementes utilizadas foram desinfestadas com solução de hipoclorito de sódio 2%, álcool 70%, seguido por lavagem com água destilada, esterilizada e secas em condição ambiente, durante 10 min. O tratamento de sementes correspondeu a uma aplicação de 0,3 mL de uma formulação contendo os *Bacillus* em 1 Kg de semente previamente pesada. As sementes foram semeadas em vasos contendo 1,5 kg de solo e irrigado até atingir 80% de sua capacidade de campo (C.C.). Cada tratamento foi composto de 5 repetições dispostas ao acaso com duas plantas por vaso. No momento que as plantas apresentaram a primeira folha totalmente desenvolvida, foi induzido o estresse hídrico. Os tratamentos foram conduzidos sob dois regimes de irrigação: estresse hídrico e irrigado. O estresse hídrico foi caracterizado por manter os vasos a 30% C.C. e os tratamento irrigado foi mantido com 80% C.C. O experimento foi realizado até 45 dias após semeadura. Nesse momento, foram realizadas avaliações de comprimento de raiz, massa da matéria fresca e seca da parte aérea e da raiz. Os dados obtidos foram submetidos à análise da variância e suas médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5%. Os dados foram transformados utilizando a função  $\sqrt{x}$  sempre que necessário, e submetidos à análise estatística.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

[027] Foram observadas diferenças estatísticas significativa para todas

as avaliações [massa fresca de raiz (MFR), massa seca de raiz (MSR), massa fresca de parte aérea (MFPA), massa seca de parte aérea (MSPA) e altura de plantas (AT)], no qual os tratamentos T3, T6 e T8 exibiram valores significativamente superiores ao tratamento T2 (controle não irrigado) para o parâmetro MSR, demonstrando que esses microrganismos possuem maior capacidade de produção radicular em situações de estresse hídrico.

Tabela 2. Avaliações de altura de planta (AT), matéria fresca de parte aérea (MFPA), raiz (MFR) e matéria seca de parte aérea (MSPA) e de raiz (MSR) do milho aos 45 dias após semeadura. (IDENTIFICAR OS ORGANISMOS).

Tratamento	Altura (cm)	MFPA (g)	MFR (g)	MSPA (g)	MSR (g)
T1 (CI)	59,38 a	23,38 a	21,90 a	1,68 a	1,70 a
T2 (CNI)	35,91 b	6,3 bcde	9,41 bc	0,31 c	0,60 cd
T3 ( <i>Bacillus aryabhatai</i> cepa 1)	41,56 b	9,26 b	12,59 b	0,47 bc	0,91 b
T4 ( <i>Bacillus aryabhatai</i> cepa 2)	37,00 b	5,46 cde	9,52 bc	0,36 c	0,69 bcd
T5 ( <i>Bacillus thuringiensis</i> )	33,13 bc	4,81 de	7,18 cd	0,48 bc	0,64 cd
T6 ( <i>Bacillus aryabhatai</i> cepa 4)	40,88 b	7,91 bcd	12,39 b	0,67 b	0,96 b
T7 ( <i>Bacillus aryabhatai</i> cepa 1. + <i>Bacillus aryabhatai</i> cepa 4)	28,50 c	4,06 e	6,80 d	0,38 c	0,58 d
T8 ( <i>Bacillus aryabhatai</i> cepa 1. + <i>Bacillus aryabhatai</i> cepa 2)	41,31 b	8,18 bc	12,40 b	0,73 b	0,94 b
T9 ( <i>Bacillus aryabhatai</i> cepa 1. + <i>Bacillus thuringiensis</i> )	36,25 b	7,11 bcd	9,97 bc	0,64 b	0,77 bcd

T10 ( <i>Bacillus</i> <i>aryabhatai</i> cepa 4 + <i>Bacillus</i> <i>thuringiensis</i> )	37,94 b	7,58 bcd	11,47 b	0,73 b	0,83 bc
T11 ( <i>Bacillus</i> <i>aryabhatai</i> cepa 4 + <i>Bacillus</i> <i>aryabhatai</i> cepa 2)	35,00 b	5,28 cde	9,74 bc	0,54 bc	0,75 cd
T12 ( <i>Bacillus</i> <i>aryabhatai</i> cepa 2 + <i>Bacillus</i> <i>thuringiensis</i> )	33,56 bc	4,89 de	10,65 b	0,45 bc	0,83 bc
<b>CV(%)</b>	<b>7,22</b>	<b>15,33</b>	<b>10,31</b>	<b>15,48</b>	<b>10,02</b>

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si à Tukey (5%). MFPA: Massa fresca de parte aérea; MFR: Massa fresca de raiz; MSPA: Massa seca de parte aérea; MSR: Massa seca de raiz; CI: Controle irrigado; CNI: Controle não irrigado.

**[028]** Para os outros parâmetros avaliados, AT, MFPA e MFR não foi possível observar diferença significativa entre as médias dos tratamentos e o controle não irrigado. Contudo, vale salientar que os tratamentos T3, T6, T8 e T10, mesmo não apresentando significância em relação ao tratamento controle não irrigado, apresentou, numericamente valores maiores em todos os parâmetros mencionados anteriormente, sugerindo uma tendência desses microrganismos a agregarem vantagens competitivas para a cultura e na mitigação dos danos causados por estresse hídrico na cultura do milho.

**[029]** Com base nos resultados obtidos pode-se comprovar que o tratamento de sementes com formulações contendo rizobactérias do gênero *Bacillus* em plantas de milho sob estresse hídrico minimiza os efeitos negativos da falta de água.

## CONCLUSÕES

**[030]** O uso de formulações contendo rizobactérias do gênero *Bacillus*, adicionados ao tratamento de sementes, mostra-se uma alternativa viável para a redução do efeito negativo causado pelo estresse hídrico em plantas

cultivadas. Ainda, além da diversidade de mecanismos de ação desses microrganismos específicos, essa formulação biológica amplia os efeitos benéficos da técnica, podendo ser ampliado para outras culturas e diferentes regiões de cultivo.

**[031]** A composição para redução do dano causado por estresse hídrico deverá seguir o seguinte fluxo de eventos:

- Matéria prima: as matérias primas que irão compor o produto deverão ser recebidas e manipuladas por pessoas treinadas;
- Mistura: as matérias primas deverão ser pesadas e misturadas seguindo o procedimento operacional padrão (POP) nas proporções indicadas;
- Amostragem: após a mistura, deverão ser retiradas amostras para verificação e certificação das garantias do produto. Deve-se analisar número de unidades formadoras de colônias (u.f.c.)/g de produto;
- Envase: o produto formulado que se apresentar dentro das especificações de garantia deverão ser envasados em frascos plásticos de 1,0; 5,0 e 10,0 kg, previamente rotulados. Os frascos/pouchs são selados e fechados;
- Armazenagem: os frascos/pouchs são acomodados em pallets e armazenados em local seco, arejado e protegido da luz, permanecendo nessa condição até ser despachado.

**[032]** O presente invento poderá ser aplicado tanto via sulco de plantio, via barra, como tratamento (industrial ou não) e incrustação (industrial ou não) de sementes. O método de aplicação deverá ser analisado caso a caso e dependerá das condições técnicas e necessidade de cada produtor.

#### VANTAGENS OBTIDAS

**[033]** O uso das rizobactérias gênero em adição ou não a óleos essenciais e extratos de plantas, aos polímeros e/ou componentes do

revestimento/incrustação de sementes das plantas cultivadas, assim obtida, oferece as seguintes vantagens:

- Possui facilidade operacional para o emprego da tecnologia no tratamento de semente de forma industrial ou não;
- É uma alternativa viável para redução dos danos causados por estresses abióticos, principalmente estresse por falta de água no sistema de plantas cultivadas;
- Apresenta vantagens na colonização e reposição de microrganismos para a microbiota do solo;
- Promove crescimento acelerado em plantas cultivadas, agregando assim maior massa fotossintética ativa para produção;
- É capaz de ser empregado nos constituintes do revestimento/incrustação de sementes, não se limitando a *Coffea* spp (*Coffea arabica*, *Coffea canefora*, *Coffea robusta*), *Glycine max*, *Zea mays*, *Gossypium hirsutum*, hortaliças (*Solanum lycopersicum*, *Allium cepa*, *Lactuca sativa*, *Daucus carota*, *Capsicum annuum Group*), florestais (*Eucalyptus* spp., *Tectona grandis*, *Hevea brasiliensis*, *Pinus* sp.), *Nicotiana tabacum*, ornamentais, frutíferas (*Citrus* spp., *Malus* spp., *Carica papaya*, *Vitis* spp., *Cucumis melo*, *Prunus persica*, *Passiflora edulis*), *Brachiaria* spp. (*Brachiaria brizantha*, *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria humidicola*, *Brachiaria mutica*, *Brachiaria ruziziensis*, *Brachiaria arrecta*, *Brachiaria dictyneura*), *Panicum* spp. (*Panicum maximum*), *Sorghum* spp., *Pennisetum americanum*, crotalárias (*Crotalaria juncea*, *Crotalaria spectabilis*, *Crotalaria ochroleuca*, *Crotalaria paulina*, *Crotalaria breviflora*), dentre outras, no tratamento industrial ou não.
- Pode ser aplicado em área total via barra de pulverização ou mesmo em

jato direcionado no sulco de plantio nas culturas, não se limitando a *Coffea* spp (*Coffea arabica*, *Coffea canefora*, *Coffea robusta*), *Glycine max*, *Zea mays*, *Gossypium hirsutum*, hortaliças (*Solanum lycopersicum*, *Allium cepa*, *Lactuca sativa*, *Daucus carota*, *Capsicum annuum* Group), florestais (*Eucalyptus* spp., *Tectona grandis*, *Hevea brasiliensis*, *Pinus* sp.), *Nicotiana tabacum*, ornamentais, frutíferas (*Citrus* spp., *Malus* spp., *Carica papaya*, *Vitis* spp., *Cucumis melo*, *Prunus persica*, *Passiflora edulis*), *Brachiaria* spp. (*Brachiaria brizantha*, *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria humidicola*, *Brachiaria mutica*, *Brachiaria ruziziensis*, *Brachiaria arrecta*, *Brachiaria dictyneura*), *Panicum* spp. (*Panicum maximum*), *Sorghum* spp., *Pennisetum americanum*, crotalárias (*Crotalaria juncea*, *Crotalaria spectabilis*, *Crotalaria ochroleuca*, *Crotalaria paulina*, *Crotalaria breviflora*), dentre outras.

[034] A abrangência da presente patente de invenção, não deve ser limitada aos exemplos de aplicação, mas sim, aos termos definidos nas reivindicações e seus equivalentes.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALAMI, Younes et al. Rhizosphere soil aggregation and plant growth promotion of sunflowers by an exopolysaccharide-producing *Rhizobium* sp. Strain isolated from sunflower roots. *Applied and environmental microbiology*, v. 66, n. 8, p. 3393-3398, 2000.
- ARORA, N. K.; KANG, S. C.; MAHESHWARI, D. K. Isolation of siderophore producing strains of *Rhizobium meliloti* and their biocontrol potential against *Macrophomina phaseolina* that causes charcoal rot of groundnut. *Curr. Sci*, v. 81, n. 6, p. 673-677, 2001.
- BALDO, Marcelo Nascimento. Comportamento anatômico, fisiológico e

- agronômico do milho (*Zea mays* L.) submetido a estresses de ambiente em diferentes estádios fenológicos. 2007. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz.
- BERGAMASCHI, Homero; MATZENAUER, Ronaldo. O milho e o clima. Porto Alegre: Emater/RS-Ascar, p. 84, 2014.
- ÇAKIR, Recep. Effect of water stress at different development stages on vegetative and reproductive growth of corn. *Field Crops Research*, v. 89, n. 1, p. 1-16, 2004.
- CONAB, Acompanhamento da Safra Brasileira De Grãos, Safra 2014/15 - Sexto Levantamento, Brasília, v. 2, n. 11, p. 1-103, agosto. 2015.
- CONAB, Acompanhamento da Safra Brasileira De Grãos, Safra 2015/16 - Nono levantamento, Brasília, v. 3, n. 9, p. 1-174, junho 2016.
- FAOSTAT. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>; Acesso em 07 de maio de 2017.
- FRATTINI, J. A. Cultura do milho: instruções sumárias. Campinas: CATI/COT. P, v. 26, 1975.
- HUSSAIN, M. B. et al. Potential of Rhizobium spp. for improving growth and yield of rice (*Oryza sativa* L.). *Soil Environ*, v. 28, n. 1, p. 49-55, 2009.
- KAVAMURA, Vanessa Nessner et al. Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. *Microbiological research*, v. 168, n. 4, p. 183-191, 2013.
- KUMAR, Sudhir; STECHER, Glen; TAMURA, Koichiro. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution*, p. msw054, 2016.
- NASEEM, Hafsa; BANO, Asghari. Role of plant growth-promoting rhizobacteria and their exopolysaccharide in drought tolerance of maize.

- Journal of Plant Interactions, v. 9, n. 1, p. 689-701, 2014.
- MAGALHÃES, Paulo César; DURÃES, Frederico OM; GOMIDE, Reinaldo Lúcio. Fisiologia da cultura do milho. Empresa Capixaba de Pesquisa Agropecuária. Manual técnico para a cultura do milho no estado do Espírito Santo. Vitória: EMCAPA, p. 15-33, 1996.
- PANDEY, R. K.; MARANVILLE, J. W.; ADMOU, A. Deficit irrigation and nitrogen effects on maize in a Sahelian environment: I. Grain yield and yield components. Agricultural water management, v. 46, n. 1, p. 1-13, 2000.
- Sikora RA, Padgham JL. 2007. Biological control potential and modes of action of *Bacillus megaterium* against *Meloidogyne graminicola* on rice. *Crop Protection* 26:971-977.
- VURUKONDA, Sai Shiva Krishna Prasad et al. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. Microbiological research, v. 184, p. 13-24, 2016.

## REIVINDICAÇÕES

### **1 - COMPOSIÇÃO CONTENDO MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO E REDUÇÃO DE ESTRESSE HIDRÍCO EM PLANTAS CULTIVADAS,** caracterizada por compreender:

1,0 a 20,0% de pelo menos 2 (duas) ou mais espécies de *Bacillus* ou 2 (duas) ou mais cepas de uma mesma espécie, em misturas e combinação entre eles ou parte deles (em unidades formadoras de colônia, u.f.c.);

1,0 a 20,0% de Aditivos;

1,0 a 97,0% de Excipientes.

### **2 - COMPOSIÇÃO CONTENDO MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO E REDUÇÃO DE ESTRESSE HIDRÍCO EM PLANTAS CULTIVADAS,** de acordo com a reivindicação

1, caracterizada por opcionalmente ser adicionado a composição reivindicada em 1:

5,0 a 10,0% de óleos essenciais.

### **3 - COMPOSIÇÃO CONTENDO MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO E REDUÇÃO DE ESTRESSE HIDRÍCO EM PLANTAS CULTIVADAS,** de acordo com a reivindicação

1, caracterizada por opcionalmente ser adicionado a composição reivindicada em 1:

5,0 a 10,0% de extratos de plantas.

### **4 - COMPOSIÇÃO CONTENDO MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO E REDUÇÃO DE ESTRESSE HIDRÍCO EM PLANTAS CULTIVADAS,** de acordo com a reivindicação

1, caracterizada por opcionalmente serem adicionados a composição reivindicada em 1:

5,0 a 10,0% de óleos essenciais;

5,0 a 10,0% de extratos de plantas.

**5 - COMPOSIÇÃO CONTENDO MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO E REDUÇÃO DE ESTRESSE HIDRÍCO EM PLANTAS CULTIVADAS**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelos representantes dos gêneros de *Bacillus* serem do grupo que consistem nas espécies de: *Bacillus aryabhattai*, *Bacillus velezensis*, *Bacillus agri*, *Bacillus toyonensis*, *Bacillus aizawai*, *Bacillus albolactis*, *Bacillus firmus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus endoparasiticus*, *Bacillus endorhythmos*, *Bacillus kustaki*, *Bacillus lacticola*, *Bacillus lactimorbus*, *Bacillus lactis*, *Bacillus laterosporus*, *Bacillus lentimorbus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus medusa*, *Bacillus metiens*, *Bacillus natto*, *Bacillus nigrificans*, *Bacillus popilliae*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus siamensis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefasciens*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus flexus*, *Bacillus pseudomycoides*, *Bacillus natto*, dentre outros.

**6 - COMPOSIÇÃO CONTENDO MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO E REDUÇÃO DE ESTRESSE HIDRÍCO EM PLANTAS CULTIVADAS**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelos aditivos serem do grupo consistindo de polímeros iônicos solúveis em água, aminoácidos, extratos de algas, compostos de origem natural, polímeros aniônicos solúveis em água, surfactantes selecionados do grupo consistindo de surfactantes aniônicos e surfactantes não iônicos e combinações entre eles.

**7 - COMPOSIÇÃO CONTENDO MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO E REDUÇÃO DE ESTRESSE HIDRÍCO EM PLANTAS CULTIVADAS**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelos excipientes serem do grupo que consiste em: sílicas,

talco, bentonita, carboidratos, carbonatos, caseína, soro de leite e derivados de leite e combinações entre eles.

**8 - COMPOSIÇÃO CONTENDO MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO E REDUÇÃO DE ESTRESSE HIDRÍCO EM PLANTAS CULTIVADAS**, de acordo com as reivindicações 2 e 3, caracterizada pelos óleos essenciais de plantas ou extratos de plantas serem extraídos e/ou derivados de sementes e/ou plantas, do grupo que consiste em: *Ricinus communis*, *Crotalaria juncea*, *Chenopodium ambrosioides*, *Azadirachta indica*, *Verbena officinalis*, *Erythrina mulungu*, *Quassia amara*, *Bidens pilosa*, *Plantago lanceolata*, *Senecio brasiliensis*, *Lantana camara*, *Tagetes patula*, *Lantana montevidensis*, *Eucalyptus* spp., *Lantana montevidensis*, *Lantana camara*, *Senecio brasiliensis*, *Chrysanthemum coronarium*, *Solanum americanum*, *Solanum paniculatum* *Hovenia dulcis*, *Melia azedarach*, *Butia eriospatha*, *Schinus terebinthifolius*, *Cinnamomum camphora*, *Conyza bonariensis*, *Senecio brasiliensis*, *Bidens pilosa*, *Amaranthus hybridus*, *Euphorbia heterophylla*, *Raphanus sativus*, *Ipomoea purpurea*, *Brachiaria plantaginea*, *Ruta graveolens*, *Aloysia triphylla*, *Brassica napus*, *Mucuna pruriens*, *Ocimum gratissimum*, *Lippia sidoides*, *Croton zehntneri*, *Mentha piperita*, *Cymbopogon martinii*, *Cymbopogon schoenanthus*, *Piper aduncum*, *Arisaema franchetianum*, *Zanthoxylum simulans*, *Ruta chalepensis*, *Citrus sinensis*, *Melaleuca quinquenervia*, *Cymbopogon citratus*, *Thymus vulgaris*, *Piper aduncum*, *Melaleuca alternifolia*, *Hesperozygis myrtoides*, dentre outras.

**9 - COMPOSIÇÃO CONTENDO MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO E REDUÇÃO DE ESTRESSE HIDRÍCO EM PLANTAS CULTIVADAS**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por ser empregada como formulação em pó molhável,

suspensão de encapsulado, concentrado dispersível, concentrado emulsionável, emulsão de água em óleo, emulsão de óleo em água, microemulsão, suspensão concentrada, suspo-emulsão, granulado solúvel, concentrado solúvel, pó solúvel, tablete, granulado dispersível, pó molhável, gel emulsionável, gel solúvel em água, grânulo emulsionável, pó emulsionável, dispersão de óleo ou suspensão concentrada em óleo, formulação mista de concentrado solúvel e suspensão concentrada, formulação mista de concentrado solúvel e suspo-emulsão, formulação mista de concentrado solúvel e emulsão de óleo em água, suspensão concentrada dispersível ou miscível em óleo, solução miscível em óleo, pó dispersível em óleo, granulado encapsulado, pó seco, líquido para pulverização eletrostática/eletrodinâmica, granulado, óleo para pulverização/espalhamento, suspensão a ultrabaixo volume, ultrabaixo volume, microgranulado, pó fino, granulado fino, macrogranulado, encapsulamento, microencapsulamento e nanoencapsulamento.

**10 – USO DA COMPOSIÇÃO CONTENDO MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO E REDUÇÃO DE ESTRESSE HIDRÍCO EM PLANTAS CULTIVADAS,** caracterizado por ser empregada como pulverização, pulverização de sulco de plantio, drench, no revestimento (industrial ou não), tratamento (industrial ou não) e incrustação (industrial ou não) de sementes das plantas cultivadas, não se limitando a *Coffea* spp (*Coffea arabica*, *Coffea canefora*, *Coffea robusta*), *Glycine max*, *Zea mays*, *Gossypium hirsutum*, hortaliças (*Solanum lycopersicum*, *Allium cepa*, *Lactuca sativa*, *Daucus carota*, *Capsicum annuum Group*), florestais (*Eucalyptus* spp., *Tectona grandis*, *Hevea brasiliensis*, *Pinus* sp.), *Nicotiana tabacum*, ornamentais, frutíferas (*Citrus* spp., *Malus* spp., *Carica papaya*, *Vitis* spp., *Cucumis melo*, *Prunus*

*persica*, *Passiflora edulis*), *Brachiaria* spp. (*Brachiaria brizantha*, *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria humidicola*, *Brachiaria mutica*, *Brachiaria ruziziensis*, *Brachiaria arrecta*, *Brachiaria dictyneura*), *Panicum* spp. (*Panicum maximum*), *Sorghum* spp., *Pennisetum americanum*, crotalárias (*Crotalaria juncea*, *Crotalaria spectabilis*, *Crotalaria ochroleuca*, *Crotalaria paulina*, *Crotalaria breviflora*), dentre outras.

**11 – USO DA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 10, caracterizado por ser empregada com a função de promoção de crescimento, redução de estresse hídrico, bioestimulantes, inoculantes, solubilizador de fósforo e estimulantes de crescimento nas plantas cultivadas, não se limitando a : *Coffea* spp (*Coffea arabica*, *Coffea canefora*, *Coffea robusta*), *Glycine max*, *Zea mays*, *Gossypium hirsutum*, hortaliças (*Solanum lycopersicum*, *Allium cepa*, *Lactuca sativa*, *Daucus carota*, *Capsicum annum Group*), florestais (*Eucalyptus* spp., *Tectona grandis*, *Hevea brasiliensis*, *Pinus* sp.), *Nicotiana tabacum*, ornamentais, frutíferas (*Citrus* spp., *Malus* spp., *Carica papaya*, *Vitis* spp., *Cucumis melo*, *Prunus persica*, *Passiflora edulis*), *Brachiaria* spp. (*Brachiaria brizantha*, *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria humidicola*, *Brachiaria mutica*, *Brachiaria ruziziensis*, *Brachiaria arrecta*, *Brachiaria dictyneura*), *Panicum* spp. (*Panicum maximum*), *Sorghum* spp., *Pennisetum americanum*, crotalárias (*Crotalaria juncea*, *Crotalaria spectabilis*, *Crotalaria ochroleuca*, *Crotalaria paulina*, *Crotalaria breviflora*), dentre outras.

**12 - USO DA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 10, caracterizado por ser empregada com a função de condicionador de solos para todas as culturas e qualquer área agriculturável.

**13 - USO DA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 10, caracterizado por ser empregada com a função de biorremediação de áreas

agricultáveis.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/BR2019/050051

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER <b>A01N 63/00 (2006.01), C12N 1/20 (2006.01), C12R 1/07 (2006.01)</b> According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) <b>A01N, C12N, C12R</b> Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched <b>GOOGLE</b> Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) <b>EPODOC, ESPACENET</b>		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0705807 A1 (HIBINO SUSUMU [JP]) 10 April 1996 (1996-04-10) See page 1, lines 5-6; page 2, lines 45-55.	1 to 13
Y	BR 112013002854 A2 (CHR HANSEN A/S [DK]) 31 May 2016 (2016-05-31) See page 4, lines 9-12; page 11, lines 20-23; Table (page 11); claims 1-4.	1 to 13
X	Kavamura, V. N. "Bactérias associadas às cactáceas da Caatinga: promoção de crescimento de plantas sob estresse hídrico". Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2012. See Item 5 - Abstract; Item 5.2.1.7; Item 5.2.1.7.4; Item 5.2.2.6 (page 206, lines 2-3; page 210, first paragraph).	1 to 13
<input checked="" type="checkbox"/>	Further documents are listed in the continuation of Box C.	<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents:		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date		"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)		"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search <b>11/03/2019</b>	Date of mailing of the international search report 18/03/2019	
Name and mailing address of the ISA/ INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL Rua Mayrink Veiga nº 9, 6º andar cep: 20090-910, Centro - Rio de Janeiro/RJ Facsimile No. <b>+55 21 3037-3663</b>	Authorized officer <b>Paula Salles de Oliveira Martins</b> Telephone No. <b>+55 21 3037-3493/3742</b>	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/BR2019/050051

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>Tordim, C. "Cientistas usam bactérias para ajudar plantas a resistir à seca". 23 May 2017. See the whole document. Available in <a href="https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/22885691/scientists-use-bacteria-to-help-plants-resist-droughts">https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/22885691/scientists-use-bacteria-to-help-plants-resist-droughts</a> (Access in 10/03/2019).</p>	1 to 13

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.

PCT/BR2019/050051

EP 0705807 A1	1996-04-10	EP 0705807 B1 DE 69420411 D1	1999-09-01 1999-10-07
-----	-----	-----	-----
BR 112013002854 A2	2016-05-31	AU 2011288495 A1 CL 2013000396 A1 CN 103068247 A CO 6670597 A2 CR 20130053 A DK 2603086 T3 EA 201390225 A1 EA 029469 B1 EP 2603086 A1 ES 2610359 T3 HK 1180544 A1 LT 2603086 T MX 2013001399 A MX 338032 B PE 13352013 A1 PL 2603086 T3 RS 55608 B1 SI 2603086 T1 UA 112846 C2 US 2013195826 A1 US 8858933 B2 US 2015050258 A1 US 9485993 B2 US 2017049112 A1 WO 2012020014 A1	2013-02-21 2014-04-11 2013-04-24 2013-05-15 2013-05-15 2017-01-30 2013-06-28 2018-03-30 2013-06-19 2017-04-27 2017-08-11 2017-02-27 2013-03-25 2016-03-31 2013-12-08 2017-06-30 2017-06-30 2017-02-28 2016-11-10 2013-08-01 2014-10-14 2015-02-19 2016-11-08 2017-02-23 2012-02-16
-----	-----	-----	-----

## A. CLASSIFICAÇÃO DO OBJETO

A01N 63/00 (2006.01), C12N 1/20 (2006.01), C12R 1/07 (2006.01)

De acordo com a Classificação Internacional de Patentes (IPC) ou conforme a classificação nacional e IPC

## B. DOMÍNIOS ABRANGIDOS PELA PESQUISA

Documentação mínima pesquisada (sistema de classificação seguido pelo símbolo da classificação)

A01N, C12N, C12R

Documentação adicional pesquisada, além da mínima, na medida em que tais documentos estão incluídos nos domínios pesquisados

GOOGLE

Base de dados eletrônica consultada durante a pesquisa internacional (nome da base de dados e, se necessário, termos usados na pesquisa)

EPODOC, ESPACENET

## C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoria*	Documentos citados, com indicação de partes relevantes, se apropriado	Relevante para as reivindicações Nº
X	EP 0705807 A1 (HIBINO SUSUMU [JP]) 10 abril 1996 (1996-04-10) Ver página 1, linhas 5-6; página 2, linhas 45-55.	1 a 13
Y	BR 112013002854 A2 (CHR HANSEN A/S [DK]) 31 maio 2016 (2016-05-31) Ver página 4, linhas 9-12; página 11, linhas 20-23; Tabela (página 11); reivindicações 1-4.	1 a 13
X	Kavamura, V. N. "Bactérias associadas às cactáceas da Caatinga: promoção de crescimento de plantas sob estresse hídrico". Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2012. Ver Item 5 – Resumo; Item 5.2.1.7; Item 5.2.1.7.4; Item 5.2.2.6 (página 206, linhas 2-3; página 210, primeiro parágrafo).	1 a 13

 Documentos adicionais estão listados na continuação do quadro C Ver o anexo de famílias das patentes

\* Categorias especiais dos documentos citados:

"A" documento que define o estado geral da técnica, mas não é considerado de particular relevância.

"E" pedido ou patente anterior, mas publicada após ou na data do depósito internacional

"L" documento que pode lançar dúvida na(s) reivindicação(ões) de prioridade ou na qual é citado para determinar a data de outra citação ou por outra razão especial

"O" documento referente a uma divulgação oral, uso, exibição ou por outros meios.

"P" documento publicado antes do depósito internacional, porém posterior a data de prioridade reivindicada.

"T" documento publicado depois da data de depósito internacional, ou de prioridade e que não confira como depósito, porém citado para entender o princípio ou teoria na qual se baseia a invenção.

"X" documento de particular relevância; a invenção reivindicada não pode ser considerada nova e não pode ser considerada envolver uma atividade inventiva quando o documento é considerado isoladamente.

"Y" documento de particular relevância; a invenção reivindicada não pode ser considerada envolver atividade inventiva quando o documento é combinado com um outro documento ou mais de um, tal combinação sendo óbvia para um técnico no assunto.

"&amp;" documento membro da mesma família de patentes.

Data da conclusão da pesquisa internacional

11/03/2019

Data do envio do relatório de pesquisa internacional:

18/03/2019

Nome e endereço postal da ISA/BR


 INSTITUTO NACIONAL DA  
 PROPRIEDADE INDUSTRIAL  
 Rua Marink Veiga nº 9, 6º andar  
 cep: 20090-910, Centro - Rio de Janeiro/RJ

Nº de fax:

+55 21 3037-3663

Funcionário autorizado

Paula Salles de Oliveira Martins

Nº de telefone:

+55 21 3037-3493/3742

## C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoria*	Documentos citados, com indicação de partes relevantes, se apropriado	Relevante para as reivindicações N°
Y	Tordim, C. "Cientistas usam bactérias para ajudar plantas a resistir à seca". 23 de maio de 2017. Ver documento inteiro. Disponível em <a href="https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/22885691/scientists-use-bacteria-to-help-plants-resist-droughts">https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/22885691/scientists-use-bacteria-to-help-plants-resist-droughts</a> (Acesso em 10/03/2019).	1 a 13

**RELATÓRIO DE PESQUISA INTERNACIONAL**  
 Informação relativa a membros da família da patentes

Depósito internacional Nº

PCT/BR2019/050051

Documentos de patente citados no relatório de pesquisa	Data de publicação	Membro(s) da família de patentes	Data de publicação
EP 0705807 A1	1996-04-10	EP 0705807 B1 DE 69420411 D1	1999-09-01 1999-10-07
-----	-----	-----	-----
BR 112013002854 A2	2016-05-31	AU 2011288495 A1 CL 2013000396 A1 CN 103068247 A CO 6670597 A2 CR 20130053 A DK 2603086 T3 EA 201390225 A1 EA 029469 B1 EP 2603086 A1 ES 2610359 T3 HK 1180544 A1 LT 2603086 T MX 2013001399 A MX 338032 B PE 13352013 A1 PL 2603086 T3 RS 55608 B1 SI 2603086 T1 UA 112846 C2 US 2013195826 A1 US 8858933 B2 US 2015050258 A1 US 9485993 B2 US 2017049112 A1 WO 2012020014 A1	2013-02-21 2014-04-11 2013-04-24 2013-05-15 2013-05-15 2017-01-30 2013-06-28 2018-03-30 2013-06-19 2017-04-27 2017-08-11 2017-02-27 2013-03-25 2016-03-31 2013-12-08 2017-06-30 2017-06-30 2017-02-28 2016-11-10 2013-08-01 2014-10-14 2015-02-19 2016-11-08 2017-02-23 2012-02-16
-----	-----	-----	-----