



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

**(21) PI 1004530-9 A2**



(22) Data de Depósito: 27/10/2010  
(43) Data da Publicação: 21/05/2013  
(RPI 2211)

**(51) Int.Cl.:**  
**C12N 11/02**  
**A01N 63/00**

**(54) Título:** FORMULAÇÃO DE BACTÉRIAS PARA O BIOCONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS

**(73) Titular(es):** Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

**(72) Inventor(es):** Wagner Bettiol

**(57) Resumo:** FORMULAÇÃO DE BACTÉRIAS PARA O BIOCONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS. A presente invenção diz respeito a uma formulação de bactérias em materiais de fibra vegetal e pode ser utilizada por meio da incorporação da formulação em solos e tratamento de sementes, bem como em solução nutritiva em sistemas hidropônicos, para a promoção de crescimento de plantas e/ou controle biológico de doenças. Preferencialmente a formulação da presente invenção utiliza fibra de coco. Uma vantagem da presente invenção é a possível substituição da turfa e de outros materiais orgânicos ou não, utilizados na formulação de inoculantes e de agentes de controle biológico bacterianos e fungicos pela fibra-de-coco.

## FORMULAÇÃO DE BACTÉRIAS PARA O BIOCONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS

### CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção diz respeito a uma formulação de bactérias em materiais de fibra vegetal e pode ser utilizada por meio da incorporação da formulação em solos e tratamento de sementes, bem como em solução nutritiva em sistemas hidropônicos, para a promoção de crescimento de plantas e/ou controle biológico de doenças. Preferencialmente a formulação da presente invenção utiliza fibra de coco.

Uma vantagem da presente invenção é a possível substituição da turfa e de outros materiais orgânicos ou não, utilizados na formulação de inoculantes e de agentes de controle biológico bacterianos e fungicos pela fibra-de-coco.

### FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

A formulação de agentes de biocontrole é um passo fundamental para a utilização desses microrganismos na agricultura. Dentre as vantagens da formulação de bioagentes podem ser listados o aumento da vida-de-prateleira dos microrganismos, a eficácia, o crescimento e a sobrevivência no meio ambiente; aliados à compatibilidade com as práticas culturais (MARTIN, F.N.; LOPER, J.E. Soilborne plant diseases caused by *Pythium* spp.; ecology, epidemiology, and prospects for biological control. Critical Reviews in Plant Sciences, v.18, n2, p. 111-181, 1999). Diferentes produtos podem ser utilizados na formulação de agentes de biocontrole, sendo esses orgânicos ou inorgânicos, como por exemplo, o talco, a turfa, a caulinita e a vermiculita (NAKKEERAN, S.; DILANTHA, W.G.F.; SIDDIQUI, Z.A. Plant growth promoting rhizobacteria formulations and its scope in commercialization for the management of pests and diseases. In. PGPR: Biocontrol and Biofertilization, Ed. Siddiqui, Z.A. p. 257-296, 2005).

O estado da técnica mostra que a fibra de coco e a bactéria *Pseudomonas* já foram utilizados separadamente como parte da composição em formulações de controle biológico (WO2009135289, US2009274646, JP2008120752, US2002146394,

WO200265836, DE29910002, ZA9510628) e biofertilizantes (US7405181, NL1005417, GB2252553, FR2722058, CN101624319, CN101497542, CN101468924, CN101284740, CN101054568, RO85118), mas nenhum desses documentos mostra a relação entre a utilização de fibras de coco e bactéria *Pseudomonas* para controle biológico de doenças de plantas, promoção de crescimento de plantas, biofertilizantes e com tamanha eficiência.

Formulações com bactérias Gram-positivas, como as do gênero *Bacillus*, são mais frequentes no mercado, quando comparadas com formulações de bactérias Gram-negativas, como, por exemplo, as pertencentes ao gênero *Pseudomonas* (BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B.; PINTO, Z. V.; PAULA-JÚNIOR, T.J.; CORRÊA, E.B.; MOURA, A.B.; LUCON, C. M. M.; COSTA, J. C. B.; BEZERRA, J.L. Bioprotetores comerciais para o controle de doenças de plantas – parte I. In. Revisão Anual de Patologia de Plantas, Ed. Luz, W.C. p. 111-148, 2009). Bactérias do gênero *Bacillus* produzem endósporos, estruturas de resistência que garantem ampla vida-de-prateleira para o produto formulado. Como exemplo da maior vida-de-prateleira de produtos formulados com os diferentes grupos de bactérias pode ser citada a de dois anos do produto Companion®, formulado com *Bacillus subtilis* GB03, e a vida-de-prateleira de 56 dias do produto Cedomon® e Cerall®, formulados com *Pseudomonas chlororaphis*, nas mesmas temperaturas.

Bactérias do gênero *Pseudomonas* possuem elevado potencial para o desenvolvimento de produtos comerciais, devido a alta efetividade no controle de doenças de plantas da parte aérea e do sistema radicular em diferentes tipos de cultivos (KHAN, A.; SUTTON, J.C.; GRODZINSKI, B. Effects of *Pseudomonas chlororaphis* and root rot in peppers grown in small-scale hydroponic troughs. Biocontrol Science and Technology, v. 13, n.6, p.615-630, 2003; NAKKEERAN, S., KAVITHA, K., CHANDRASEKAR, G., RENUKADEVI, P., AND FERNANDO, W.G.D. Induction of plant defense compounds by *Pseudomonas chlororaphis* PA23 and *Bacillus subtilis* BSCBE4 in controlling damping-off of hot pepper caused by *Pythium aphanidermatum*. Biocontrol Science Technology, v.16, p. 403-416, 2006; STOCKWELL, V. O.; STACK, J.P. Using *Pseudomonas* spp. for integrated biological control. Phytopathology, v. 97, p.244-249, 2007).

Diversos mecanismos de ação de controle biológico de doenças de plantas têm sido descobertos com o estudo desse gênero de bactérias (BAKKER, P.A.H., PIETERSE, C.M.J., AND VAN LOON, L.C. Induced systemic resistance by fluorescent *Pseudomonas* spp. *Phytopathology*, v. 97, p. 239-243, 2007; BLOEMBERG, G.V., AND LUGTENBERG, B.J.J. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Current Opinion of Plant Biology*, v.4, p. 343-350, 2001; KLOEPPER, J.W.; TUZUN, S.; KUC, J. Proposed definitions related to induced disease resistance. *Biocontrol Science Technology*, v.2, p.349-351, 1992). Entretanto, são poucos os estudos com relação à formulação de *Pseudomonas*. Esse fato pode ser explicado devido à sensibilidade desse gênero às condições adversas, e conseqüentemente difícil formulação e aplicação comercial (PAULITZ, T.C.; BÉLANGER, R.R. Biological control in greenhouse systems. *Annual Review Phytopathology*, v.39, p. 103-133, 2001).

Formulações de espécies de *Pseudomonas* com substratos à base de talco e turfa foram sugeridas por Vidhyasekaran e Muthamilan (VIDHYASEKARAN, P.; MUTHAMILAN, M. Development of formulation of *Pseudomonas fluorescens* for control of chickpea wilt. *Plant Disease*, v. 79, p.782-785, 1995), Krishnamurthy e Gnanamanickan (KRISHNAMURTHY, K., AND GNANAMANICKAN, S.S. Biological control of rice blast by *Pseudomonas fluorescens* strain Pf714: Evaluation of a marker gene and formulation. *Biological control*, v.13, p.158-165, 1998), Wiyono et al. (WIYONO, S.; SCHULZ, D.F.; WOLF, G.A. Improvement of the formulation and antagonistic activity of *Pseudomonas fluorescens* B5 through selective additives in the pelleting process. *Biological Control*, v. 46, p. 348-357, 2008), Kloepper e Schroth (KLOEPPER, J.W.; SCHROTH, M.N. Development of a powder formulation of rhizobacteria for inoculation of potato seed pieces. *Phytopathology*, v.71, p.590-592, 1981), Nakkeeran et al. (NAKKEERAN, S., KAVITHA, K., CHANDRASEKAR, G., RENUKADEVI, P., AND FERNANDO, W.G.D. Induction of plant defense compounds by *Pseudomonas chlororaphis* PA23 and *Bacillus subtilis* BSCBE4 in controlling damping-off of hot pepper caused by *Pythium aphanidermatum*. *Biocontrol Science Technology*, v.16, p. 403-416, 2006), Vidhyasekaran e Muthamilan (VIDHYASEKARAN, P.; MUTHAMILAN, M. Evaluation of a powder formulation of *Pseudomonas fluorescens* Pfl for control of rice sheath blight. *Biocontrol Science*

Technology, v. 9, p. 67-74, 1999) e Vidhyasekaran et al. (VIDHYASEKARAN, P., SETHURAMAN, K., RAJAPPAN, AND VASUMATHI, K. Power formulations of *Pseudomonas fluorescens* to control pigeonpea wilt. *Biological Control*, v. 8, p.166-171, 1997); com vida-de-prateleira variando de 2 meses a 4°C (KLOEPPER, J.W.; SCHROTH, M.N. Development of a power formulation of rhizobacteria for inoculation of potato seed pieces. *Phytopathology*, v.71, p.590-592, 1981) até 12 meses a 5°C (WIYONO, S.; SCHULZ, D.F.; WOLF, G.A. Improvement of the formulation and antagonistic activity of *Pseudomonas fluorescens* B5 through selective additives in the pelleting process. *Biological Control*, v. 46, p. 348-357, 2008).

Os resíduos agroindustriais obtidos por meio do processamento do coco verde ou maduro vêm sendo utilizados no beneficiamento de fibras, como combustíveis de caldeiras, na produção de tapetes e estofamentos e na formulação de substratos para uso agrícola. A utilização da fibra-de-coco em diversos segmentos industriais é uma alternativa para minimizar o impacto ambiental provocado por esse resíduo sólido (CEMPRE. Perfil de recicladora de fibras de coco. São Paulo, 1998. *Reciclagem & Negócio:Fibra-de-coco*.35p; ROSA, M. F.; SANTOS, J. S. S.; MONTENEGRO, A. A. T.; ABREU, F. A. P.; ARAÚJO, F. B. S.; NORÕES, E. R. Caracterização do pó da casca de coco verde usado como substrato agrícola. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2001. 6p. Comunicado Técnico, 5; MOREIRA, M. A., DANTAS, F.M., SANTOS, C.P. D., OLIVEIRA, L.M.D., AND MOURA, L.C. Produção de mudas de pimentão com o uso de pó de coco. *Rev. Fap.*, v. 4, p.19-26, 2008).

*Pseudomonas chlororaphis* 63-28 é um dos melhores isolados bacterianos utilizados para o controle de podridões radiculares e promoção de crescimento em cultivos em casa de vegetação no Canadá (PAULITZ, T.C.; BÉLANGER, R.R. Biological control in greenhouse systems. *Annual Review Phytopathology*, v.39, p. 103-133, 2001), sendo um eficiente agente de controle biológico e promotor de crescimento em hidroponia (GAGNÉ, S.; DEHBI, L.; LE QUÉRÉ, D.; CAYER, F.; MORIN, J-L.; LEMAY, R.; FOURNIER, N. Increase of greenhouse tomato fruit yields by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) inoculated into the peat based growing media. *Soil Biology Biochnology*, v.25, p.269-272, 1993; LIU, W.; SUTTON, J.C.; GRODZINSKI, B.; KLOEPPER, J.W.; REDDY, M.S. Biological control of *Pythium*

root rot of chrysanthemum in small-scale hydroponic units. *Phytoparasitica*, v. 35, p.159-178, 2007; OWEN-GOING, T.N.; SUTTON, J.C; GRODZINSKI. Relationship of *Pythium* isolates and sweet pepper plants in single-plant hydroponic units. *Canadian Journal of Plant Pathology*, v. 25, p.155-167, 2003). Além da eficiente competição por espaço e nutrientes com patógenos radiculares, o isolado bacteriano produz antibióticos, induz resistência nas plantas e produz hormônios de crescimento vegetal (PAULITZ, T.C.; BÉLANGER, R.R. Biological control in greenhouse systems. *Annual Review Phytopathology*, v.39, p. 103-133, 2001; ZHENG, J., SUTTON, J.C., AND YU, HI. Interactions among *Pythium aphanidermatum*, roots, root mucilage, and microbial agents in hydroponic cucumbers. *Canadian Journal of Plant Pathology*, v. 22, p. 368-379, 2000). Devido à efetividade de *Pseudomonas chlororaphis* 63-28 como agente de biocontrole, em 1994 foi implantado o projeto SYNERGIE no Canadá, onde um dos intuitos era formular *Pseudomonas chlororaphis* 63-28 em turfa para a utilização em cultivos protegidos, com a vida-de-prateleira de seis meses a um ano. Os pesquisadores verificaram a maior sobrevivência do isolado 63-28 em turfa com a umidade de 100-150% (v/v) e a menor sobrevivência em turfa com as umidades de 45% e 25%. No entanto, mesmo nas melhores umidades a população bacteriana declinou para níveis inferiores a  $10^6$  ufc/g após 1 a 2 meses (PAULITZ, T.C.; BÉLANGER, R.R. Biological control in greenhouse systems. *Annual Review Phytopathology*, v.39, p. 103-133, 2001).

No mercado internacional estão disponíveis os bioprodutos Cedomon® e Cerall® (Bioagri, Suécia) para o tratamento de sementes de aveia, cevada e trigo formulados com *Pseudomonas chlororaphis*. A vida-de-prateleira dos bioprodutos é de 56 dias quando armazenados de 4 °C - 8 °C e de 21 dias em temperatura ambiente (LANTMANNEN BIOAGRI: [http://www.bioagri.se/pseudomonas\\_eng.html](http://www.bioagri.se/pseudomonas_eng.html), acesso em 25 de setembro de 2009). A formulação da presente invenção demonstra que *Pseudomonas chlororaphis* 63-28 possui vida-de-prateleira de 224 dias a  $3\pm 1^\circ\text{C}$  quando formulada em fibra-de-coco. Demonstrando ser a fibra de coco de grande utilidade para a formulação dessa bactéria.

As barreiras para o uso comercial de *Pseudomonas* spp. incluem a falta de informações sobre a tecnologia de formulação que otimizem o custo de produção

massal e a aplicação dos agentes de biocontrole (WIYONO, S.; SCHULZ, D.F.; WOLF, G.A. Improvement of the formulation and antagonistic activity of *Pseudomonas fluorescens* B5 through selective additives in the pelleting process. *Biological Control*, v. 46, p. 348-357, 2008). Os resultados encontrados no desenvolvimento da formulação com fibra de coco indicam a viabilidade de sua utilização para a formulação de *Pseudomonas*, devido a sua elevada vida-de-prateleira.

Uma outra aplicação da presente invenção está na utilização da formulação no desenvolvimento vegetal, principalmente em cultivos hidropônicos, visando a promoção de crescimento das plantas.

Desde o início do seu emprego em escala comercial, no ano de 1940, o cultivo hidropônico vem crescendo em todo o mundo (FURLANI, P.R.; BOLONHEZI, D.; SILVEIRA, L.C.P.; FAQUIN, V. Nutrição mineral de hortaliças, preparo e manejo de soluções nutritivas. *Informe Agropecuário*, v.20, n. 200/201, p. 90-98, 1999; FURLANI, P.R. Simpósio IV – *Pythium* em sistemas hidropônicos – danos e perspectivas para o controle: Principais sistemas hidropônicos em operação no Brasil. *Summa Phytopathologica*, v. 34, p.146-147, 2008; STANGHELLINI, M.E.; RASMUSSEN, S.L. Hydroponics a solution for zoosporic pathogens. *Plant Disease*, v. 78, n. 12, p. 1129-1138, 1994). O crescimento do cultivo hidropônico é devido às vantagens proporcionadas na produção vegetal por esse sistema, como a padronização da produção, a antecipação do ciclo da cultura, a redução no uso da água, a eficiência do uso de fertilizantes e a maior produção por área (FURLANI, P.R.; BOLONHEZI, D.; SILVEIRA, L.C.P.; FAQUIN, V. Nutrição mineral de hortaliças, preparo e manejo de soluções nutritivas. *Informe Agropecuário*, v.20, n. 200/201, p. 90-98, 1999). Essas vantagens são em grande parte responsáveis pela utilização de solução nutritiva que fornece os nutrientes necessários, mantendo junto às raízes a composição e a concentração adequada de nutrientes, além do controle do pH da solução, mantendo esse em faixas adequadas para a absorção de nutrientes (FAQUIN, V.; FURLANI, P.R. 1999. Cultivo de hortaliças de folhas em hidroponia em ambiente protegido. *Informe Agropecuário* 20 : 99-104; FERNANDES, A.A.; MARTINEZ, H.E.P.; PEREIRA, P.R.G.; FONSECA, M.C.M. Produtividade, acúmulo de nitrato e estado nutricional de cultivares de alface, em hidroponia, em função de fontes de nutrientes. *Horticultura*

Brasileira, v.20, n.2, p.195-200, 2002; MEDEIROS, C.A.B.; ZIEMER, A.H.; DANIELS, J.; PEREIRA, A.S. Produção de sementes pré-básicas de batata em sistemas Hidropônicos. Horticultura Brasileira, Brasília, v.20, n.1, p.110-114, 2002).

Atualmente, a produção hidropônica se concentra em hortaliças e flores, sendo  
5 empregada na produção de alface, rúcula, agrião, almeirão, couve, coentro, salsa, cebolinha, salsa, tomate, pepino, pimentão, morango, tubérculos e flores (FAQUIN, V.; FURLANI, P.R. 1999. Cultivo de hortaliças de folhas em hidroponia em ambiente protegido. *Informe Agropecuário* 20 : 99-104; Chatterton, S.; Sutton, J. C. e Boland, G.J. 2004. Timing *Pseudomonas chlororaphis* applications to control *Pythium aphanidermatum*, *Pythium dissotocum*, and root rot in hydroponic peppers. *Biological Control* 30: 360-373; PAULITZ, T.C.; ZHOU, T. & RANKIN, L. Selection of rhizosphere bacteria for biological control of *Pythium aphanidermatum* on hydroponically-grown cucumber. *Biological Control*, v.2, p. 226-237. 1992.; MEDEIROS, C.A.B.; ZIEMER, A.H.; DANIELS, J.; PEREIRA, A.S. Produção de  
10 sementes pré-básicas de batata em sistemas hidropônicos. Horticultura Brasileira, Brasília, v.20, n.1, p.110-114, 2002). No Brasil, a principal cultura produzida em hidroponia é a alface, sendo essa produção localizada principalmente próxima as regiões metropolitanas.

Desde a sua criação, os sistemas hidropônicos vêm sendo modificados para a  
20 melhor adaptação às condições ambientais e sócio econômicas de cada região, visando o aumento da qualidade e da produtividade das culturas (ANDRIOLO, J.L.; LUZ, G.L.; GIRALDI, C.; GODOI, R.S.; BARROS, G.T. Cultivo hidropônico da alface empregando substratos: uma alternativa a NFT?. Horticultura Brasileira.v.22, n.4, p.794-798, 2004). Os principais sistemas hidropônicos empregados são o nutrient film technique (NFT), o deep film technique (DFT) ou floating, o cultivo em substrato e a aeroponia. O sistema NFT é a técnica mais empregada no Brasil para o cultivo de hortaliças de folhas, onde a solução nutritiva é bombeada para os canais e escoada por gravidade, formando uma fina lâmina de solução que irriga as raízes. A técnica de DFT é empregada com a utilização de uma lâmina profunda de solução nutritiva (5 a 20 cm),  
25 onde as plantas são acondicionadas em mesa plana onde a solução circula por meio de bombeamento e gravidade. O cultivo em substratos é utilizado principalmente para as culturas que possuem elevado porte, como pepino, pimentão e tomate, onde a solução  
30

nutritiva circula através do substrato, geralmente inerte, como a areia, a argila expandida, a vermiculita, a lã de rocha, a turfa e a fibra de coco, retornando ao tanque de solução nutritiva. No cultivo em aeroponia as raízes das plantas ficam suspensas recebendo água e nutrientes por atomizadores (FAQUIN, V.; FURLANI, P.R. 1999.

5 Cultivo de hortaliças de folhas em hidroponia em ambiente protegido. *Informe Agropecuário* 20: 99-104).

Podridões radiculares causadas por espécies de *Pythium* são um sério problema para o cultivo hidropônico em todo o mundo. Cultivares resistentes não estão disponíveis para o produtor e não existe fungicidas registrados para o uso em

10 hidroponia. A principal medida de controle da doença é o impedimento da entrada do patógeno no sistema. Uma vez instalada a doença, a sua supressão pode ser realizada por meio da adição de agentes de controle biológico na solução nutritiva. Além de controlarem a doença, a introdução de microrganismos benéficos pode promover o crescimento das plantas, aumentando a receita do produtor. A presente invenção

15 Atualmente, os principais produtos estudados e utilizados para a formulação de bactérias do gênero *Pseudomonas* são talco, turfa, serragem, terra diatomácea, bentonita, farinha de algodão, vermiculita e farelo de trigo. Uma das vantagens da presente tecnologia está em se utilizar um substrato orgânico, abundante como resíduo no Brasil, que não contamina e não degrada o meio ambiente.

## 20 SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção diz respeito a uma formulação bacteriana para incorporação em solos e tratamento de sementes, bem como em solução nutritiva para sistemas hidropônicos, visando a promoção de crescimento de plantas e/ou controle biológico de doenças.

25 Uma das concretizações da invenção é uma formulação caracterizada por compreender:

(a) células de microrganismos;

(b) material de fibra vegetal;

(c) água em quantidade suficiente para manter viáveis as células dos

microrganismos;

(d) opcionalmente, aditivos nutrientes ou fatores de crescimento selecionado do grupo consistindo de açúcares, aminoácidos, proteínas, sais e semelhantes, ou suas misturas.

- 5 (e) opcionalmente adjuvantes selecionados de agentes osmótico-reguladores, agentes de tamponamento ou de ajuste de pH

Uma segunda concretização da invenção diz respeito ao uso da formulação caracterizada pelo fato da dita formulação ser aplicada às sementes e qualquer material propagativo destinados ao plantio.

- 10 Uma terceira concretização da invenção diz respeito ao uso da formulação caracterizada pelo fato de dita formulação ser aplicada em culturas hidropônicas.

Uma quarta concretização da invenção diz respeito a um método caracterizado pelo fato de aplicar a formulação em uma quantidade eficaz para controlar uma praga biológica.

- 15 Uma quinta concretização da invenção diz respeito a um método caracterizado pelo fato de aplicar a formulação em uma quantidade eficaz para permitir o desenvolvimento de plantas hidropônicas.

Uma sexta concretização da invenção diz respeito a um material propagativo de plantas caracterizado pelo fato de serem tratadas com a formulação.

20 BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

Figura 1 – Gráficos ilustrando a sobrevivência (Vida-de-prateleira) de *Pseudomonas chlororaphis* 63-28 em fibra de coco acrescida ou não de carboximetilcelulose (CMC) ou goma xantana (XAN) nas temperaturas de  $3\pm 1^\circ\text{C}$  (A) e  $22\pm 1^\circ\text{C}$  (B).

- 25 Figura 2 – Gráficos ilustrando a sobrevivência (Vida-de-prateleira) de *Pseudomonas aureofaciens* TX-1 (A-B) e *Pseudomonas chlororaphis* 63-28 (C-D) e em fibra de coco com diferentes umidades nas temperaturas de  $3\pm 1^\circ\text{C}$  e  $22\pm 1^\circ\text{C}$

Figura 3 – Gráficos ilustrando a sobrevivência de *Pseudomonas chlororaphis* 63-28 em água, óleo de canola e tampão  $\text{MgSO}_4$  0,1M nas temperaturas de  $3\pm 1^\circ\text{C}$  (A) e  $22\pm 1^\circ\text{C}$

(B).

Figura 4 – Gráfico mostrando o crescimento foliar de uma folha jovem de planta de alface hidropônica após infestação da solução nutritiva ou não com células de *Pseudomonas chlororaphis* 63-28 multiplicada por dois dias ou *Pseudomonas*

5 *chlororaphis* 63-28 formulada em fibra de coco e armazenada por 140 dias.

Figura 5 – Gráfico mostrando a taxa de crescimento foliar de plantas de alface hidropônica após infestação da solução nutritiva ou não com células de com

*Pseudomonas chlororaphis* 63-28 (2 dias) ou *Pseudomonas chlororaphis* 63-28 (140 dias).

10

### DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

A presente invenção diz respeito a uma formulação de bactérias em materiais de fibra vegetal e pode ser utilizada por meio da incorporação da formulação em solos e tratamento de sementes, bem como em solução nutritiva em sistemas hidropônicos, para a promoção de crescimento de plantas e/ou controle biológico de doenças.

15

A formulação da presente invenção é caracterizada pelo fato de compreender:

(a) células de microorganismos;

(b) material de fibra vegetal;

20

(c) água em quantidade suficiente para manter viáveis as células dos microorganismos;

(d) opcionalmente, aditivos nutrientes ou fatores de crescimento;

(e) opcionalmente adjuvantes selecionados de agentes osmótico-reguladores, agentes de tamponamento ou de ajuste de pH.

25

O termo “microrganismo” refere-se a organismos microscópicos tais como bactérias, vírus, fungos e protozoários. Preferencialmente a presente invenção tem como microorganismos os organismos escolhidos do grupo das bactérias. “Bactérias” referem-se a organismos procariotos, com exceção das cianofíceas. A invenção possui uso sobre várias espécies de bactérias, que incluem, mas não estão limitadas ao grupo das Actinobacteria, Aquificae, Bacteroidetes/grupo Chlorobi, Chlamydiae/ grupo

Verrucomicrobia, Chloroflexi, Chrysiogenetes, Cyanobacteria, Gloeobacteria, Nostocales, Oscillatoriales, Pleurocapsales, Prochlorales, Stigonematales, Deferribacteres, Deinococcus-Thermus, Dictyoglomi, Fibrobacteres/grupo Acidobacteria, Firmicutes, Fusobacteria, Gemmatimonadetes, Nitrospirae, 5 Planctomycetes, Proteobacteria, Spirochaetes, Thermodesulfobacteria, Thermotogae. Preferencialmente a invenção utiliza-se de bactérias selecionadas do grupo das rizobactérias promotoras de crescimento de planta, incluindo *Pseudomonas* spp, *Herbaspirillum* spp., *Azospirillum* spp., *Gluconacetobacter* spp., *Burkholderia* spp., e *Bacillus* spp. Mais preferencialmente a invenção diz respeito às *Pseudomonas*.

10 As células dos microorganismos utilizadas na presente invenção são definidas como sendo unidades formadoras de colônias. Preferencialmente para a presente invenção foram utilizadas de  $1 \times 10^7$  a  $1 \times 10^{11}$  unidades formadoras de colônia (ufc)/mL.

Conforme utilizado aqui o termo “material vegetal” significa todo e qualquer 15 material oriundo de vegetais tais como cascas e outros componentes fibrosos de sementes e frutas, e caules das plantas. Preferencialmente para a presente invenção foram utilizados fibras de coco. A fibra de coco da presente invenção pode ser utilizada da seguinte forma: moída em diferentes granulometrias, associadas com aditivos para correção de acidez e condutividade elétrica. A quantidade de fibra de coco utilizada irá 20 depender da sua granulometria, podendo ser de 1 mm até 10 mm. Essa granulometria vai depender da utilização da formulação. Para hidroponia, tratamento de semente, pulverização e irrigação será a menor possível (<2 mm). Por outro lado, para mistura com substrato ou solo poderá ser até de 1 a 10 mm. Preferencialmente para a presente invenção a fibra de coco foi peneirada em peneiras com a abertura de 2 mm e foi 25 utilizada na proporção de 10:1 (10 g de fibra de coco:1 ml de suspensão de células da bactéria.

A presente invenção é caracterizada pelo fato dos aditivos nutrientes ou fatores de crescimento serem selecionados do grupo consistindo de açúcares, aminoácidos, proteínas, sais e semelhantes, ou suas misturas.

30 A presente invenção trabalha ainda com adjuvantes selecionados de agentes osmótico-reguladores, agentes de tamponamento ou de ajuste de pH. Preferencialmente

a invenção utiliza como adjuvantes carboximetilcelulose, goma arábica, alginato de sódio e semelhantes. Preferencialmente a invenção utiliza carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>) como agente de ajuste de pH para a neutralização do mesmo na formulação.

5 A formulação da presente invenção pode ser utilizada em controle biológico de doenças e pragas. As pragas de atuação da formulação podem ser, mas não estão limitadas as pragas selecionadas do grupo contendo lagartas, cancro, ácaros, traças, vermes, insetos de fungos, besouros, cochonilhas, moscas brancas, gafanhotos, besouros de pulga, centopéias, pulgões, aranhas, formigas e larvas de insetos. As doenças de atuação da formulação podem ser as causadas por fungos, bactérias, fungos, patógenos  
10 produtores de zoósporos, patógenos veiculados ao solo, patógenos de raiz e patógenos de parte aérea de planta. O controle de doenças de parte aérea é feito por meio do mecanismo de indução de resistência. Particularmente a formulação da presente invenção atua sobre organismos do reino Stramenopila do filo Oomicota da família Pythiaceae do gênero *Pythium*, e patógenos produtores de zoósporos.

15 A formulação da invenção pode ser aplicada às sementes e qualquer material propagativo destinados ao plantio. A formulação da invenção pode estar suspensa em água ou dispersível, pó, em forma de grânulos, ou na forma de um pó de revestimento de sementes.

20 A formulação da invenção pode ser aplicada em culturas hidropônicas, substratos de produção de mudas, substrato para crescimento de plantas, solos, solução nutritiva e água de irrigação. Na solução nutritiva e água de irrigação a formulação pode ser aplicada diretamente nos tanques. Por outro lado, nos substratos e solos pode ser misturada antes da semeadura/plantio e após via água de irrigação.

25 A invenção também descreve um método caracterizado pelo fato de aplicar a formulação da invenção em uma quantidade eficaz para controlar uma praga biológica. O termo “quantidade eficaz” pode ser definido como sendo a quantidade necessária para matar ou reduzir uma determinada praga de uma cultura ou a quantidade necessária para permitir o desenvolvimento de plantas. A quantidade da formulação irá depender do tipo de praga e cultura. Para a presente invenção foi utilizado como modelo biológico o  
30 patossistema alface x *Pythium aphanidermatum*. Preferencialmente para a presente invenção a concentração final utilizada foi de 10<sup>7</sup> ufc/mL de solução nutritiva.

A formulação da invenção pode ser aplicada às sementes, mudas e qualquer material propagativo destinado ao plantio. Os materiais propagativos da presente invenção podem ser mas não estão limitados a mudas, sementes, estaca, borbulhas, galhos, porta-enxertos, colmo e todas as partes das plantas passíveis de serem propagadas.

A formulação da invenção pode ainda ser aplicada a substrato de cultivo e na solução nutritiva.

A invenção também descreve um método caracterizado pelo fato de aplicar a formulação em uma quantidade eficaz para permitir o desenvolvimento de plantas hidropônicas bem como substrato de produção de mudas, de crescimento de plantas e solos. A quantidade da formulação para permitir o desenvolvimento de uma planta irá depender do tipo de cultura. Para a presente invenção foi estudada a cultura da alface. A formulação foi aplicada na solução nutritiva adicionando-se suspensões na concentração final de  $10^7$  ufc/mL de solução nutritiva. A formulação para a utilização em cultivos hidropônicos deve ter a granulometria adequada (inferior a 2 mm) para que não ocorra o entupimento do sistema. Formulações para a utilização em cultivos hidropônicos que utilizem substrato orgânico não possuem restrições quanto a granulometria.

A formulação da presente invenção pode ser usada na forma de composição suspensa em água ou dispersível, em grânulos, ou na forma de um pó de revestimento de sementes e outros órgãos de propagação.

#### EXEMPLOS

A presente invenção é ainda definida nos seguintes exemplos. Deve ser entendido que esses exemplos, enquanto indicam parte da invenção, são colocados como forma de ilustração somente, não tendo, portanto, qualquer cunho limitante do escopo das presentes invenções.

##### Exemplo 1 – Obtenção das Bactérias

Os isolados de bactérias utilizados na presente invenção foram *Pseudomonas aureofaciens* cepa Tx-1 e *Pseudomonas chlororaphis* cepa 63-28. Ambos os isolados pertencem à coleção de cultura da Universidade de Guelph, Canadá e foram obtidos da

empresa Eco Soils Systems, Inc., San Diego, Canadá.

### Exemplo 2 - Multiplicação das bactérias

Isolados de *Pseudomonas* spp. foram cultivados em meio líquido “Tryptic Soy Broth” (TSB – 3 a 10 g/litro de água) por 48 h em agitador a 150 rpm sob a temperatura de 22±1°C. Após 48 h a suspensão bacteriana foi centrifugada a 2000 g por 15 min, sendo as células ressuspensas e lavadas por meio da centrifugação a 2000 g por 10 min em tampão MgSO<sub>4</sub> 0,1M.

### Exemplo 3 - Aplicação das células bacterianas na fibra-de-coco

Para a avaliação da vida-de-prateleira de *Pseudomonas* spp. em fibra-de-coco foi necessário peneirar-se a fibra, para tanto foi moída e passada em peneira com a abertura de 425 µm e neutralizar-se o pH (7) com CaCO<sub>3</sub>.

Em sacos de polipropileno compostos de aberturas para a troca de oxigênio, adicionou-se o volume de 90 mL de fibra-de-coco moída e peneirada, previamente esterilizados, sendo a esterilização realizada por meio da autoclavagem por três dias alternados a 120°C. As suspensões bacterianas na concentração de contendo 5 x 10<sup>9</sup> unidades formadoras de colônia (ufc)/mL foram adicionadas à fibra-de-coco de modo que a umidade da fibra-de-coco fosse ajustada para 75-80%. Os sacos de polipropileno contendo a fibra-de-coco com as suspensões bacterianas foram acondicionados a 3±1°C e 22±1°C, de modo que, a temperatura de 3±1°C proporcionasse maior vida-de-prateleira.

Avaliações semanais ou mensais foram realizadas para a avaliação da população bacteriana por meio do plaqueamento em meio TSB acrescido de Ágar.

### Exemplo 4 - Avaliação da vida-de-prateleira *Pseudomonas chlororaphis* 63-28 e *Pseudomonas aureofaciens* TX-1 em fibra de coco com diferentes umidades

Para a avaliação da vida-de-prateleira de *P. chlororaphis* 63-28 e *P. aureofaciens* TX-1 em fibra de coco (Optimum Hydroponix, Canadá) peneirou-se a

fibra em peneira com a abertura de 425 $\mu$ m e neutralizou-se o pH com CaCO<sub>3</sub>. O volume de 90 mL de fibra de coco foi adicionado em sacos de polipropileno compostos de aberturas para a troca de oxigênio. A esterilização do substrato foi realizada por meio da autoclavagem por 3 dias alternados a 120°C. Após autoclavagem as suspensões bacterianas foram adicionadas à fibra de coco. As umidades da fibra de coco foram ajustadas para 25%, 45% e 75%. Os sacos de polipropileno contendo a fibra de coco com as suspensões bacterianas foram acondicionados a 3 $\pm$ 1°C e 22 $\pm$ 1°C durante 120 dias. Avaliações mensais foram realizadas para a avaliação da população bacteriana por meio do plaqueamento em meio TSB acrescido de Ágar, e da umidade dos substratos.

10        Exemplo 5 - Avaliação da vida-de-prateleira de *Pseudomonas chlororaphis* 63-28 em fibra de coco, talco e turfa

      Maior vida-de-prateleira de *P. chlororaphis* 63-28 em fibra de coco, com a adição ou não dos aditivos carboximetilcelulose ou goma xantana, foi verificada a 3 $\pm$ 1°C, quando comparada com a vida-de-prateleira das formulações armazenadas a 22 $\pm$ 1°C (Figura 1).

      Diferenças estatísticas foram encontradas nas 19<sup>a</sup>, 32<sup>a</sup> e 37<sup>a</sup> semanas de armazenamento, onde a sobrevivência da bactéria foi superior na fibra de coco sem aditivos a 3 $\pm$ 1°C (Figura 1A). A adição de carboximelticelulose não aumentou a sobrevivência das bactérias e a adição de goma xantana teve efeito negativo na sobrevivência de *P. chlororaphis* 63-28 a 3 $\pm$ 1°C (Figura 1A).

      Quando armazenada a 22 $\pm$ 1°C a população bacteriana decaiu uma unidade log ufc mL<sup>-1</sup> de substrato após três semanas. Não foram verificadas diferenças com relação aos aditivos na formulação, mantendo-se na mesma unidade log ufc mL<sup>-1</sup> nas formulações fibra de coco adicionada ou não de aditivos até cinco semanas de armazenamento (Figura 1B). Após nove semanas de armazenamento a 22 $\pm$ 1°C, menor população bacteriana foi verificada na fibra de coco com a adição de goma xantana, sendo que não foram encontradas diferenças estatísticas entre fibra de coco adicionada ou não de carboximetilcelulose (Figura 1B). Diferenças estatísticas também foram encontradas após 27 semanas de armazenamento a 22 $\pm$ 1°C, onde se verificou maior população da bactéria em fibra de coco adicionada de goma xantana, seguido de fibra de coco sem aditivos, e com a menor sobrevivência em fibra de coco adicionada de

carboximetilcelulose (Figura 1B).

As formulações da bactéria em turfa e talco não propiciaram a manutenção da sobrevivência da bactéria em elevadas populações, sendo que decaíram três unidades  $\log \text{ufc mL}^{-1}$  após a sua aplicação nos substratos (dados não mostrados).

5 Exemplo 6 - Avaliação da vida-de-prateleira de *Pseudomonas chlororaphis* 63-28 e *Pseudomonas aureofaciens* TX-1 em fibra de coco com diferentes umidades

A temperatura de  $3\pm 1^\circ\text{C}$  foi mais eficiente na conservação da vida-de-prateleira de *Pseudomonas* spp. quando comparada com a temperatura de  $22\pm 1^\circ\text{C}$  (Figura 2). A formulação de *Pseudomonas* spp. em fibra de coco com a umidade de 75% proporcionou maior sobrevivência bacteriana quando comparada com 45% ou 25% de umidade (Figura 2). A umidade de 25% causou a maior redução na população bacteriana ao longo do tempo, independente da espécie bacteriana utilizada (Figura 2).

A população de *P. aureofaciens* TX-1 a  $3\pm 1^\circ\text{C}$  teve comportamento semelhante em fibra de coco com as umidades de 45% e 75% até aos 60 dias de armazenamento. Aos 90 dias de armazenamento a população bacteriana foi superior no substrato com 75% de umidade, não diferindo aos 120 dias de armazenamento. Fibra de coco com 25% de umidade apresentou os menores valores de população bacteriana em todos os períodos avaliados (Figura 2A).

Quando armazenada a  $22\pm 1^\circ\text{C}$  a população de *P. aureofaciens* TX-1 foi superior em fibra de coco com 75% de umidade aos 30 dias de armazenamento, seguida por fibra de coco com 45% e 25% de umidade, respectivamente (Figura 2B). Aos 60 dias de armazenamento não foram encontradas diferenças entre as umidades 75% e 45%, sendo que a umidade de 25% proporcionou a menor sobrevivência. Aos 90 e 140 dias de armazenamento a fibra de coco com 75% de umidade proporcionou melhor sobrevivência de *P. aureofaciens* TX-1, quando comparada com a umidade de 45%. Não foi possível a recuperação das células bacterianas no meio de cultura da fibra de coco com 25% de umidade aos 90 e 140 dias de armazenamento (Figura 2B).

A formulação de *P. chlororaphis* 63-28 em fibra de coco com a umidade de 75% na temperatura de  $3\pm 1^\circ\text{C}$  manteve-se na mesma unidade  $\log \text{ufc/mL}$  de substrato durante os 140 dias de armazenamento (Figura 2C). Aos 30 dias não foram encontradas diferenças estatísticas na população bacteriana entre as umidades de 75% e 45%. No

entanto, a umidade de 25% apresentou o menor valor de ufc (Figura 2C). Durante os 60 e 90 dias de armazenamento a população bacteriana foi superior na umidade de 75%, seguida por 45% e 25%, respectivamente. Aos 120 dias verificou-se maior população bacteriana na fibra de coco com 75%, onde não foram encontradas diferenças a 45% e 25% na temperatura de  $3\pm 1^\circ\text{C}$  (Figura 2C).

O armazenamento de *P. chlororaphis* 63-28 a  $22\pm 1^\circ\text{C}$  causou redução de uma unidade log ufc/mL de substrato na população bacteriana na umidade de 75% aos 90 dias de armazenamento (Figura 2D). Aos 30 dias, a população de *P. chlororaphis* 63-28 apresentou os maiores valores de ufc quando a umidade foi de 75%, seguido de 45 e 25%, respectivamente (Figura 2D). Durante os 60 até os 120 dias de armazenamento a população bacteriana foi similar na fibra de coco com 75% ou 45% de umidade, com os menores valores de ufc no substrato com 25% de umidade (Figura 2D).

#### Exemplo 7 - Avaliação da vida-de-prateleira de *Pseudomonas chlororaphis* 63-28 em água, óleo de canola e tampão de sulfato de magnésio

A temperatura de  $3\pm 1^\circ\text{C}$  proporcionou melhor sobrevivência de *P. chlororaphis* 63-28 do que a temperatura de  $22\pm 1^\circ\text{C}$ , independentemente da suspensão utilizada para a conservação da bactéria (Figura 3). Com relação às suspensões utilizadas, a utilização de água e tampão proporcionou melhor sobrevivência bacteriana quando comparada com o óleo de canola (Figura 3). A sobrevivência de *P. chlororaphis* 63-28 na temperatura de  $3\pm 1^\circ\text{C}$  foi superior em água após 15 e 120 dias de armazenamento, seguida de tampão e óleo de canola, respectivamente (Figura 3A). Durante 30, 60 e 90 dias de armazenamento não foram encontradas diferenças estatísticas entre água e tampão. No entanto, o óleo de canola apresentou os menores valores de ufc quando considerado a sua sobrevivência (Figura 3A). Diferenças estatísticas não foram encontradas com relação a população bacteriana em água e tampão durante o decorrer do experimento a  $22\pm 1^\circ\text{C}$  (Figura 3B). No entanto, as suspensões em óleo de canola apresentaram os menores valores de ufc em todos os períodos avaliados (Figura 3B).

#### Exemplo 8 - Promoção de crescimento de alface hidropônica por *Pseudomonas chlororaphis* 63-28

A partir do quinto dia após a infestação da solução nutritiva com as suspensões bacterianas verificou-se maior crescimento foliar das plantas nos tratamentos com a

infestação das suspensões bacterianas (Figura 4).

Os dados na Figura 5 demonstram maior taxa de crescimento foliar nas plantas de alface infestadas com os isolados bacterianos. Picos de crescimento foliar foram verificados aos dois e cinco dias após a infestação da solução nutritiva com *P. chlororaphis* 63-28 (formulada em fibra de coco e com 140 dias de armazenamento) ou sem a infestação com as células bacterianas, e aos dois, quatro e seis dias após a infestação da solução nutritiva com *P. chlororaphis* 63-28 (multiplicada por 2 dias e utilizada sem formulação) (Figura 5). No entanto, os valores das áreas abaixo das curvas de crescimento e das taxas de crescimento foliares não foram significativos pelo teste F (Tabela 1).

**Tabela 01.** Efeito da infestação da solução nutritiva ou não de alface hidropônica com *Pseudomonas chlororaphis* 63-28 multiplicada por dois dias ou *Pseudomonas chlororaphis* 63-28 formulada em fibra de coco e armazenada por 140 dias, aos oito dias após a infestação das plantas com sobre a área de crescimento foliar e a área da taxa de crescimento foliar.

Tratamentos	Área de crescimento foliar	de Área da taxa de crescimento
Testemunha	938,27*	64,76
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> (2 dias)	976,73	71,82
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> (140 dias)	967,95	72,21

\* Dados sem letra foram significativos pelo teste F.

A infestação da solução nutritiva com *P. chlororaphis* preservada em fibra de coco por 140 dias promoveu o desenvolvimento do sistema aéreo de alface hidropônica, diferindo estatisticamente da testemunha sem inoculação (Tabela 2). A utilização de células da bactéria cultivadas em TSB por dois dias promoveu o desenvolvimento do sistema aéreo das plantas, mas a diferença não foi estatisticamente significativa do tratamento testemunha sem a infestação com as bactérias (Tabela 2). Os dados de massa do sistema radicular não diferiram pelo teste F (Tabela 2).

**Tabela 2.** Efeito da infestação ou não da solução nutritiva de plantas de pimentão hidropônico com *Pseudomonas chlororaphis* 63-28 cultivada por dois dias ou formulada em fibra de coco e preservada a  $3\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 140 dias sobre a massa de alface hidropônica.

<b>Tratamento</b>	<b>Fresca do sistema aéreo (g)</b>	<b>Fresca do sistema radicular (g)</b>	<b>Fresca total (g)</b>	<b>Seca do sistema aéreo (g)</b>	<b>Seca do sistema radicular (g)</b>	<b>Seca total (g)</b>
Testemunha	88,65* b	8,33*	96,98 b	5,02 b	0,36	5,38 b
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> (2 dias)	92,76 b	8,47	101,23 b	5,27 ab	0,38	5,65 ab
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> (140 dias)	103,13 a	8,69	111,82 a	5,79 a	0,39	6,18 a

5 \*Dados seguidos pela mesma letra não foram significativos no teste LSD, a 5%. \*\* Dados sem letra não foram significativos no teste F.

**REIVINDICAÇÕES**

1. Formulação caracterizada pelo fato de compreender:
  - a) células de microorganismos;
  - b) material de fibra vegetal;
  - 5 c) água em quantidade suficiente para manter viáveis as células dos microorganismos;
  - d) opcionalmente, aditivos nutrientes ou fatores de crescimento selecionado do grupo consistindo de açúcares, aminoácidos, proteínas, sais e semelhantes, ou suas misturas;
  - 10 e) opcionalmente, adjuvantes selecionados de agentes osmótico-reguladores, agentes de tamponamento ou de ajuste de pH.
2. Formulação de acordo com a reivindicação 1 caracterizada pelo fato de que dito microrganismo é selecionado do grupo consistindo de Actinobacteria, Aquificae, Bacteroidetes/grupo Chlorobi, Chlamydiae/ grupo Verrucomicrobia, Chloroflexi,  
15 Chrysiogenetes, Cyanobacteria, Gloeobacteria, Nostocales, Oscillatoriales, Pleurocapsales, Prochlorales, Stigonematales, Deferribacteres, Deinococcus-Thermus, Dictyoglomi, Fibrobacteres/grupo Acidobacteria, Firmicutes, Fusobacteria, Gemmatimonadetes, Nitrospirae, Planctomycetes, Proteobacteria, Spirochaetes, Thermodesulfobacteria, Thermotogae.
- 20 3. Formulação de acordo com a reivindicação 1 caracterizada pelo fato do material vegetal ser selecionado do grupo consistindo de cascas e outros componentes fibrosos de sementes e frutas, e caules das plantas.
4. Formulação de acordo com a reivindicação 3 caracterizada pelo fato do material vegetal ser fibra de coco.
- 25 5. Formulação de acordo com qualquer reivindicação de 1 a 4 caracterizada pelo fato de ser utilizada em controle biológico de doenças e pragas.
6. Formulação de acordo com a reivindicação 5 caracterizado pelo fato das pragas serem selecionadas do grupo contendo lagartas, cancro, ácaros, traças, vermes, insetos de fungos, besouros, cochonilhas, moscas brancas, gafanhotos, besouros de

pulga, centopéias, pulgões, aranhas, formigas e larvas de insetos.

7. Formulação de acordo com a reivindicação 5 caracterizada pelo fato das doenças serem causadas por bactérias, fungos, patógenos produtores de zoósporos, patógenos veiculados ao solo, patógenos de raiz e patógenos de parte aérea de planta.
- 5 8. Formulação de acordo com a reivindicação 7 caracterizada pelo fato dos patógenos veiculados ao solo serem selecionados do grupo *Pythium*, *Phytophthora*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*
9. Formulação de acordo com qualquer reivindicação de 1 a 4 caracterizada pelo fato de ser utilizada para promoção de crescimento de plantas.
- 10 10. Formulação de acordo com qualquer reivindicação de 1 a 4 caracterizada pelo fato da formulação ser usada na forma de composição suspensa em água ou dispersível, em grânulos, ou na forma de um pó de revestimento de sementes e outros órgãos de propagação.
11. Uso da formulação definida em qualquer das reivindicações 1 a 4 caracterizada pelo  
15 fato de dita formulação ser aplicada às sementes, mudas e qualquer material propagativo destinados ao plantio
12. Uso da formulação definida em qualquer das reivindicações 1 a 4 caracterizada pelo fato de dita formulação ser aplicada a substrato de cultivo e na solução nutritiva.
13. Uso da formulação definida em qualquer das reivindicações 1 a 4 caracterizado pelo  
20 fato de ser aplicada em culturas hidropônicas, bem como substrato de produção de mudas, de crescimento de plantas e solos.
14. Método caracterizado pelo fato de aplicar a formulação de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8 em uma quantidade eficaz para controlar uma praga biológica ou doença.
- 25 15. Método caracterizado pelo fato de aplicar a formulação de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4 em uma quantidade eficaz para permitir o desenvolvimento de plantas.
16. Material propagativo de plantas caracterizado pelo fato de serem tratados com a formulação definida em qualquer das reivindicações 1 a 10.

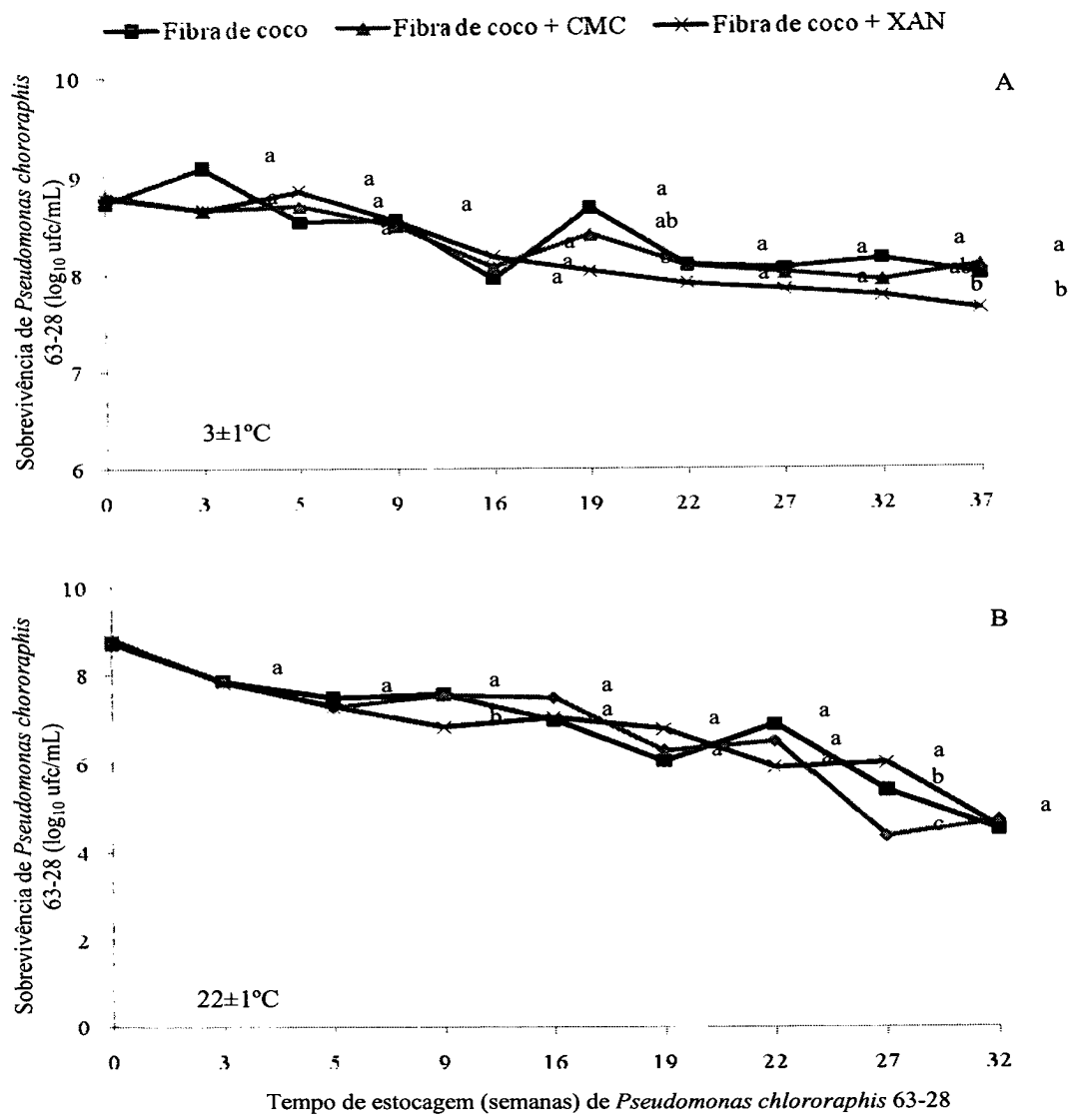


FIGURA 1

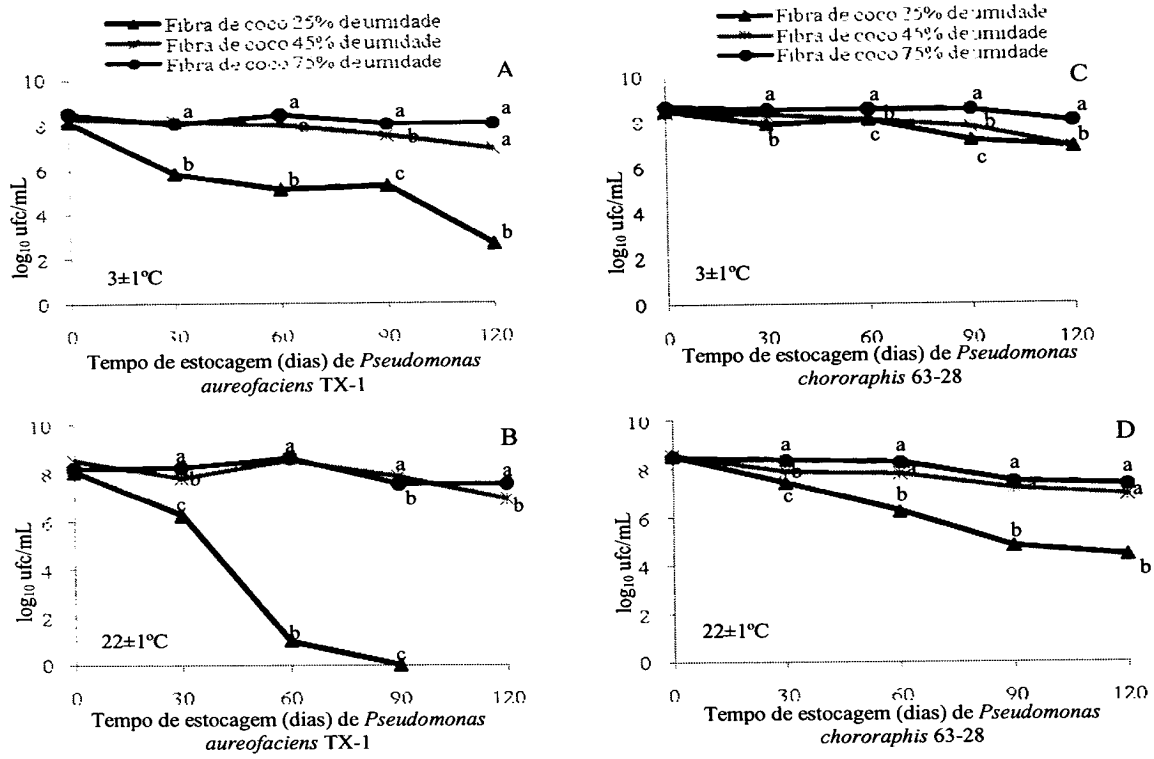


FIGURA 2

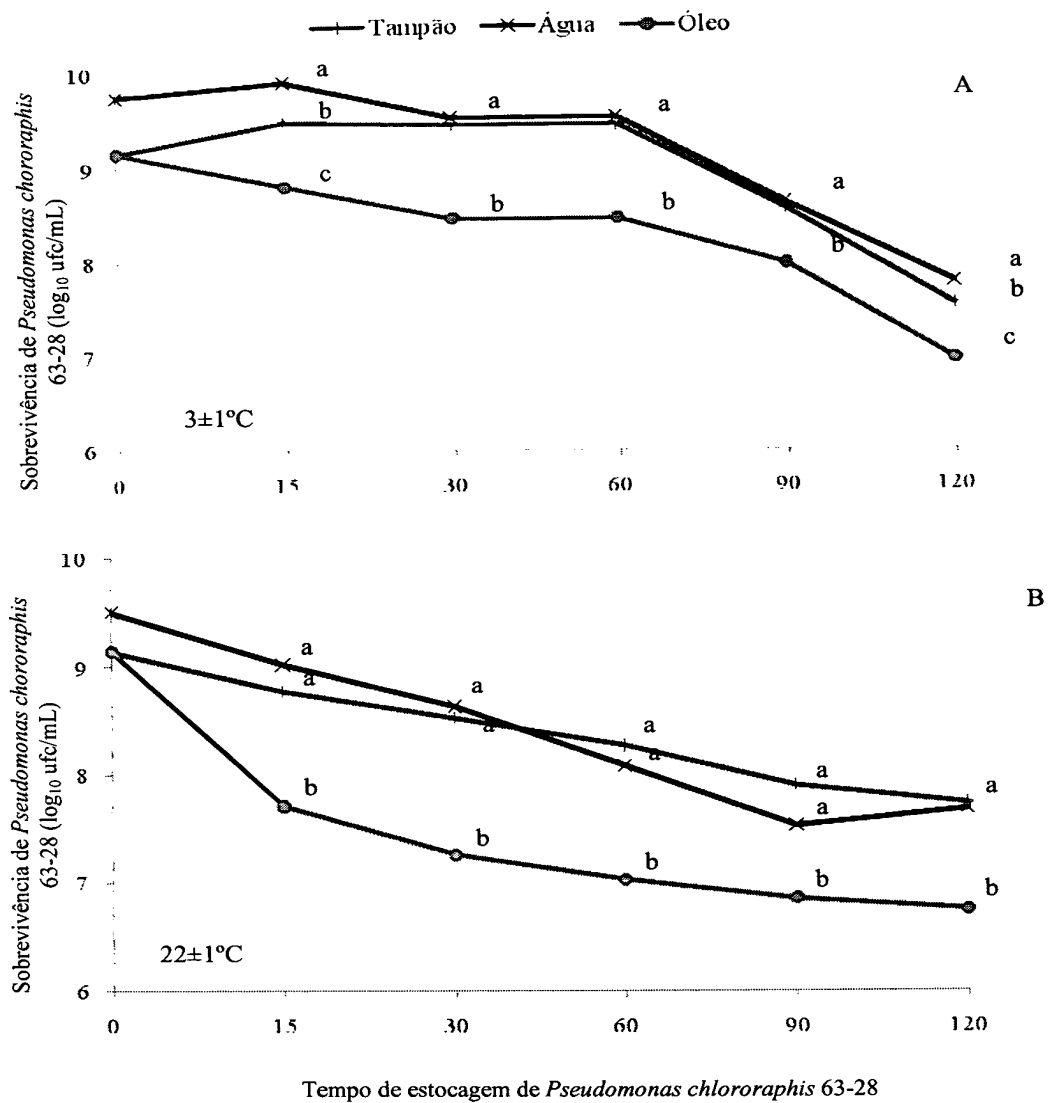


FIGURA 3

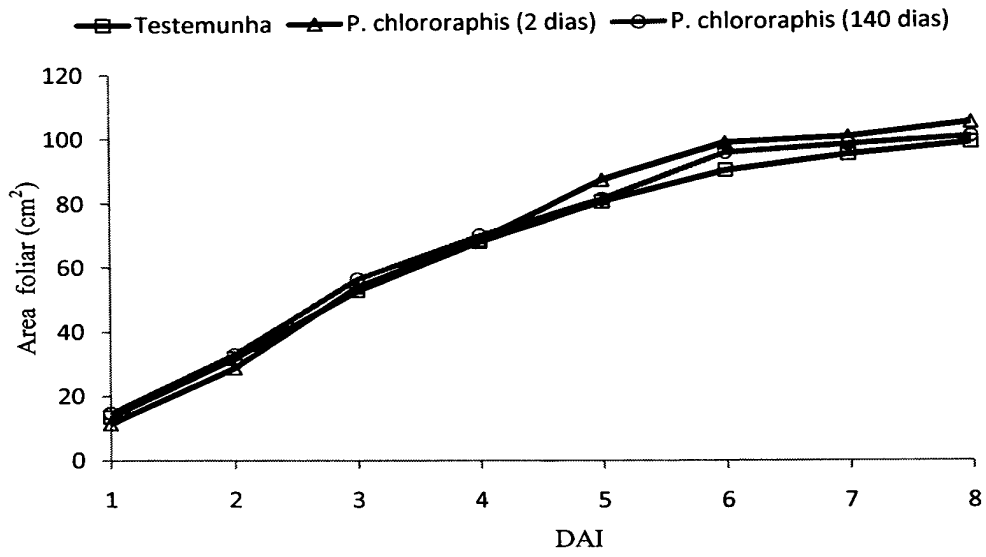


FIGURA 4

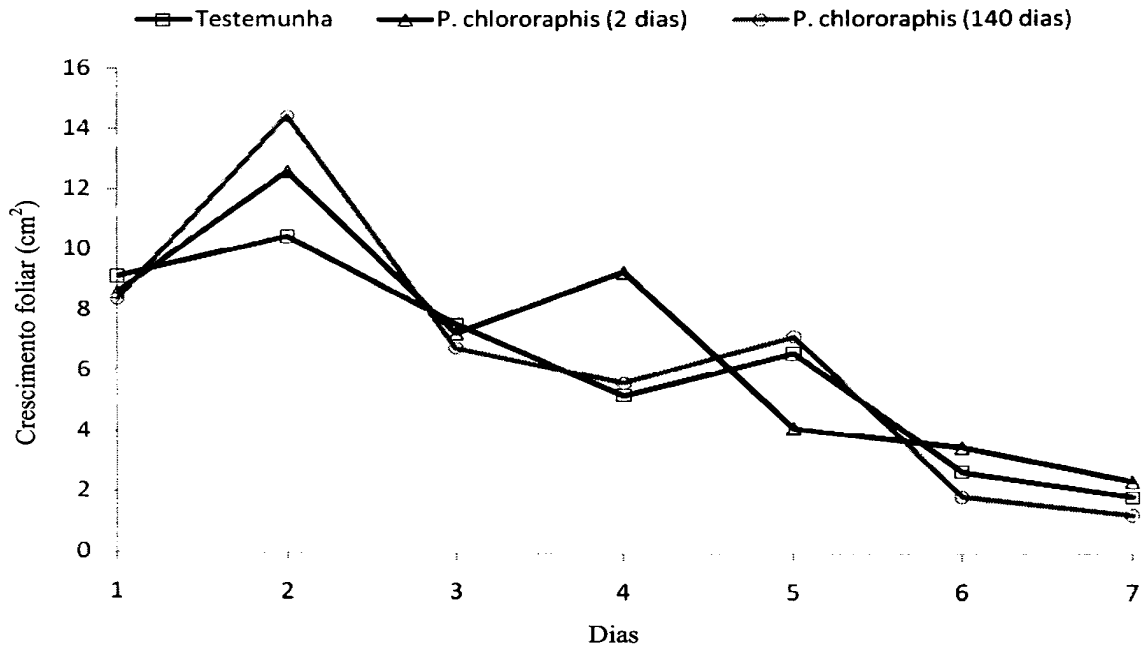


FIGURA 5

RESUMO

**FORMULAÇÃO DE BACTÉRIAS PARA O BIOCONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS**

A presente invenção diz respeito a uma formulação de bactérias em materiais de  
5 fibra vegetal e pode ser utilizada por meio da incorporação da formulação em solos e  
tratamento de sementes, bem como em solução nutritiva em sistemas hidropônicos, para  
a promoção de crescimento de plantas e/ou controle biológico de doenças.  
Preferencialmente a formulação da presente invenção utiliza fibra de coco.

Uma vantagem da presente invenção é a possível substituição da turfa e de  
10 outros materiais orgânicos ou não, utilizados na formulação de inoculantes e de agentes  
de controle biológico bacterianos e fungicos pela fibra-de-coco.