



República Federativa do Brasil

Ministério do Desenvolvimento, Indústria,
Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) BR 112018009821-3 B1

(22) Data do Depósito: 17/11/2016

(45) Data de Concessão: 14/02/2023

(54) Título: MÉTODO PARA REDUZIR A PENALIZAÇÃO DE RENDIMENTO DE MILHO SOBRE MILHO

(51) Int.Cl.: A01N 63/04; C12N 1/14; C12R 1/80.

(30) Prioridade Unionista: 20/11/2015 US 62/258,118.

(73) Titular(es): MONSANTO TECHNOLOGY LLC.

(72) Inventor(es): BRADON JAMES FABBRI; KEN FERREIRA; JANNE KEROVUO; MATTHEW MCCOWN; RADHA G. MOHANTY; SCOTT R. SCHAECHER.

(86) Pedido PCT: PCT US2016062531 de 17/11/2016

(87) Publicação PCT: WO 2017/087672 de 26/05/2017

(85) Data do Início da Fase Nacional: 15/05/2018

(57) Resumo: COMPOSIÇÃO E MÉTODOS PARA REDUÇÃO DE PENALIZAÇÃO DE RENDIMENTO DE MILHO SOBRE MILHO. A presente invenção refere-se a uma ou mais safras consecutivas nos mesmos campos que causam uma redução de produtividade ("penalização de produção de milho sobre milho"). Foram desenvolvidos métodos e inoculantes compreendendo *Penicillium bilaii* a fim de reduzir a penalização de produção de milho sobre milho. A descrição abrange os inoculantes e métodos para reduzir a penalização de rendimento de milho sobre milho.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para “**MÉTODO PARA REDUZIR A PENALIZAÇÃO DE RENDIMENTO DE MILHO SOBRE MILHO**”.

CAMPO DA INVENÇÃO

[0001] A presente invenção refere-se a composições e métodos para reduzir a penalidade de rendimento de milho sobre milho.

ANTECEDENTES

Penalização de rendimento de milho sobre milho

[0002] O milho é amplamente cultivado em todo o mundo e um peso maior de grãos de milho é produzido a cada ano do que qualquer outro grão, com os EUA produzindo 40% da colheita mundial. Os rendimentos típicos para soja, a segunda cultura mais comum nos EUA, são de apenas de 28 a 34% dos rendimentos de milho.

[0003] A utilidade do milho é multifacetada. Tanto o grão quanto o restolho são utilizados para ração animal e são promissores como matérias-primas para a produção de produtos de fermentação. Através de esforços de reprodução tradicionais ou transgênicos, variedades de milho podem ser criadas para se adaptar a diversas condições ambientais e ser resistentes a uma variedade de pragas e doenças.

[0004] A demanda global por milho cresceu de forma constante. Desde 1924, o rendimento do milho aumentou sete vezes com uma taxa de rendimento anual de cerca de 1,5% desde 1970, devido a melhorias nas taxas de fertilizantes nitrogenados (N) maiores, híbridas e outras práticas de administração.

[0005] Em resposta à crescente demanda internacional e doméstica de grãos de milho dos EUA, plantios consecutivos de milho, isto é, plantar milho em duas ou mais safras consecutivas nos mesmos campos e não girar com uma cultura diferente (“milho sobre milho”), tornou-se uma prática comum nos EUA. A produção de milho sobre milho responde aproximadamente 30% do total de hectares de milho

dos EUA em 2015 e até 50% dos hectares de milho em programas de biocombustíveis sob o Ato de Segurança e Independência Energética (EISA) de 2007.

[0006] Entretanto, existem problemas associados aos sistemas de milho sobre milho, tais como a redução da diversidade biológica do solo, potencialmente causando uma redução ou perda de serviços de biocontrole e criando uma necessidade ainda maior de técnicas de administração, incluindo pesticidas.

[0007] Além disso, é amplamente aceito que a produtividade declina em um sistema de milho sobre milho, em contraste a quando o milho é plantado em rotação com soja, trigo ou algodão. *Id.* Esta redução é referenciada como a penalidade de produção de milho sobre milho. Um estudo de 4 anos no leste do Nebraska sob condições chuvosas mostrou que a produção de milho foi 29% maior para milho cultivado em uma rotação de 2 anos de soja do que para milho em uma monocultura contínua de milho sobre milho. Vide Peterson e Varvel, *Agron. J.*, 81: 735-738 (1989). Adicionalmente, um estudo de 16 anos observou uma penalidade de 22% no rendimento de milho sobre milho (comparado ao milho alternado com soja) em condições chuvosas. Vide Wilhelm e Wortmann, *Agron. J.*, 96: 425-432 (2004).

[0008] As razões para a penalidade de produção de milho sobre milho não são totalmente compreendidas, mas o clima, o resíduo de milho e a disponibilidade de nitrogênio são frequentemente considerados como um papel importante. Vide Ding *et al.*, *Can. J. Plant Sci.*, 78: 29-33 (1998).

Micro-organismos

[0009] As plantas extraem uma variedade de elementos, incluindo nitrogênio, fósforo e micronutrientes (por exemplo, cobre, ferro, zinco, etc.) do meio em que crescem.

[0010] Como muitos solos são deficientes em tais elementos (e / ou

contêm tais elementos em uma forma que não está prontamente disponível para a absorção de plantas), suplementos nutricionais são comumente aplicados a solos a fim de melhorar o crescimento e a produtividade das plantas. Por exemplo, os fosfatos são frequentemente adicionados ao solo para neutralizar a falta de fósforo disponível. Embora os fertilizantes comerciais geralmente incluam uma fonte de fosfato prontamente disponível, como o fosfato mono-amônio ou o triplo superfosfato, as formas disponíveis de fosfato são rapidamente convertidas no solo para formas relativamente indisponíveis. Estimou-se que apenas 10 a 30% do fertilizante fosfatado é utilizado pela planta no ano em que é aplicado, e um terço a metade do fertilizante fosfatado aplicado pode nunca ser recuperado pela planta.

[0011] Certas cepas de *Penicillium* podem ser usadas para melhorar a disponibilidade de fósforo em sistemas de solo. Ver, por exemplo, as Patentes US nº 5.026.417; 5.484.464 e 7.241.588; e Publicações de Patente US nº 2010/0099560 e 2014/0143909.

[0012] A presente invenção descreve composições e métodos como formas eficazes para resolver o problema da penalização de produção de milho sobre milho.

SUMÁRIO

[0013] A presente invenção inclui composições e métodos para reduzir a penalização de produção de milho sobre milho. A presente invenção proporciona ainda que o tratamento com um inoculante compreendendo *Penicillium bilaii* resulta na redução da penalização de produção de milho sobre milho. Uma vantagem de um aspecto de certos métodos descritos neste documento é que ele fornece um inoculante como um meio eficaz de minimizar o impacto ao rendimento sem rotação de cultura, isto é não exige que um agricultor plante uma segunda cultura diferente em rotação.

[0014] Os inoculantes divulgados neste documento podem ser

utilizados em combinação com outros sistemas de gestão de culturas.

[0015] A presente invenção também fornece um método compreendendo: a) aplicação de um inoculante compreendendo *Penicillium bilaii* a uma população de plantas de milho ou sementes de milho com necessidade de reduzir uma penalização de produção de milho sobre milho; b) crescimento ou plantação da população de plantas de milho ou sementes de milho com necessidade das mesmas em um campo no qual o milho foi cultivado durante uma estação de crescimento que precede imediatamente o plantio da população de milho ou sementes de milho que com a necessidade das mesmas, no qual o inoculante é capaz de reduzir a penalidade de rendimento de milho sobre milho.

[0016] É fornecido ainda pela presente invenção um método compreendendo o fornecimento para uma pessoa de uma população de sementes de milho com necessidade de reduzir uma penalização de rendimento de milho sobre milho e um inoculante compreendendo uma quantidade eficaz de *Penicillium bilaii*, no qual a quantidade é eficaz para reduzir a penalização de rendimento de milho sobre milho.

[0017] Em outro aspecto, a presente invenção inclui um método para o crescimento de uma população de plantas de milho, compreendendo a seleção de um campo no qual o milho foi cultivado durante uma estação de crescimento que precede imediatamente a seleção do campo, plantando sementes de milho que necessitam reduzir a penalização de produção de milho sobre milho que foi tratada com quantidade eficaz de *Penicillium bilaii* no campo selecionado, no qual a quantidade é eficaz para reduzir a penalização de produção de milho sobre milho.

[0018] A presente invenção também fornece um método para impedir uma penalização de produção de milho sobre milho em uma população de plantas de milho com a necessidade citada compreendendo: a) aplicação de uma composição compreendendo uma

quantidade eficaz de *Penicillium bilaii* em sementes de milho e/ou em um campo no qual o milho foi cultivado durante uma estação de crescimento que precede imediatamente o plantio; e b) plantio das sementes de milho no campo sem cultivar uma população de plantas que não sejam de milho no campo antes do plantio das sementes de milho, no qual a quantidade é eficaz para evitar a penalização de produção do milho sobre o milho.

[0019] A presente invenção fornece ainda um método de redução de uma penalidade de rendimento de milho sobre milho em uma população de plantas de milho que dele necessitem compreendendo a) aplicação de uma composição compreendendo uma quantidade eficaz de *Penicillium bilaii* em sementes de milho e/ou a um campo em que milho foi cultivada durante uma estação de crescimento que precede imediatamente o plantio; b) plantio das sementes de milho no campo sem cultivo de uma população de plantas que não seja milho no campo antes do plantio das sementes de milho, no qual a quantidade é efetiva para reduzir a penalidade de produção de milho sobre milho.

[0020] Em um aspecto adicional, a descrição inclui um método para melhorar a produção de milho em um campo cultivado em uma rotação de milho sobre milho por duas ou mais safras consecutivas, compreendendo: a) o crescimento de uma primeira população de plantas de milho no campo durante uma primeira estação de crescimento;;e b) cultivo de uma segunda população de plantas de milho no campo durante uma segunda estação de crescimento; na qual a segunda população de plantas de milho é tratada com uma composição compreendendo um *Penicillium bilaii* antes do plantio, no momento da plantação e/ou após o plantio e no qual a primeira e segunda safras são estações de crescimento consecutivas.

[0021] Em outro aspecto, a descrição inclui um método para reduzir uma penalização da produção de milho sobre milho em um campo

cultivado em uma rotação de milho sobre milho por duas ou mais safras consecutivas, compreendendo: a) cultivo de uma primeira população de plantas de milho no campo durante uma primeira safra; e b) cultivo de uma segunda população de plantas de milho no campo durante uma segunda safra; a segunda população de plantas de milho sendo tratada com um inoculante compreendendo um *Penicillium bilaii* antes do plantio, no momento do plantio e/ou após o plantio e no qual a primeira e a segunda safras são safras de crescimento consecutivas.

[0022] Em um aspecto, a presente invenção inclui um método de gestão de rotação de colheitas que fornece duas plantações de milho consecutivas em um campo no qual a plantação posterior fornece um rendimento que é de pelo menos 80%, 82%, 84%, 86%, 88%, 90%, 92%, 94%, 96%, 98%, 100%, 102%, 104%, 106%, 108%, 110%, 115%, 120% ou 125% do rendimento da plantação anterior, o método compreendendo : a) tratamento de sementes de milho com uma composição compreendendo uma quantidade eficaz de *Penicillium bilaii*; e b) fornecimento das sementes de milho tratadas para um agricultor para crescimento em um campo no qual o milho foi plantado em uma safra imediatamente anterior.

[0023] A presente invenção fornece ainda um método de redução de penalização da produção de milho sobre milho, o método compreendendo: a) plantio de sementes de milho em necessidade do mesmo, tratadas com um inoculante compreendendo *Penicillium bilaii* em um campo em que o milho foi cultivado durante uma safra de crescimento que precede imediatamente o plantio das sementes de milho em necessidade do mesmo; b) cultivo de milho a partir das sementes de milho que dele necessitam; e c) produção de um rendimento de milho onde a penalização de produção de milho sobre milho é reduzida como resultado do inoculante compreendendo *Penicillium bilaii*.

[0024] Em outro aspecto, a presente invenção inclui um método

para redução da penalidade de produção de milho sobre milho, o método compreendendo: a) administração, a uma população de plantas de milho, de sementes de milho e/ou solo contendo uma população de plantas de milho ou sementes de milho em necessidade dos mesmos, um inoculante compreendendo uma quantidade eficaz de um *Penicillium bilaii*; e b) cultivo da população de plantas de milho ou sementes de milho em necessidade do solo; no qual o milho foi cultivado no solo durante uma safra de crescimento que precede imediatamente a safra de milho ou sementes de milho.

[0025] Ainda em outro aspecto, a presente invenção inclui ainda um método compreendendo: a) plantio de sementes de milho no solo no qual o milho foi cultivado durante uma safra de crescimento que precede imediatamente o plantio das sementes de milho e b) aplicação de um inoculante compreendendo *Penicillium bilaii* ao solo, as sementes de milho e/ou plantas que germinam a partir das sementes de milho, onde o inoculante é capaz de aumentar o rendimento das plantas.

[0026] Ainda outro aspecto da presente invenção inclui um método para maximizar a receita da agricultura de um campo, o método compreendendo: a) determinação uma primeira receita líquida projetada a partir de plantações de milho consecutivas por menos duas safras no campo; b) determinação de uma segunda receita líquida projetada a partir de uma rotação de milho sobre não milho no campo para o mesmo número de safras; c) determinação de uma terceira receita líquida projetada a partir de plantações consecutivas de milho por pelo menos duas safras no campo, no qual a terceira receita líquida projetada pressupõe que o milho e/ou o campo será tratado com um inoculante capaz de reduzir uma penalidade de rendimento de milho sobre milho no campo; d) comparação da primeira, segunda e terceira receitas líquidas projetadas; e) recomendação de plantações de milho consecutivas; e f) fornecimento de sementes de milho que foram tratadas com

um inoculante que compreende uma quantidade eficaz de *Penicillium bilaii*.

[0027] Em outro aspecto, a presente invenção inclui um método que compreende a) fornecimento a um agricultor em necessidade de instruções para reduzir uma penalização de produção de milho sobre milho pela aplicação uma quantidade eficaz de um inoculante compreendendo *Penicillium bilaii* a uma semente de milho ou a plantas que crescem da semente de milho; e b) fornecimento de inoculante ao agricultor.

DESCRIÇÃO DA FIGURA

[0028] Figura 1: Relação entre anos em milho contínuo e penalização de rendimento em milho contínuo. Adaptado a partir de Gentry *et al.*, 2013.

DESCRIÇÃO DETALHADA

[0029] A menos que definido em contrário, os termos técnicos e científicos usados neste documento têm o mesmo significado comumente entendido por uma pessoa versada na técnica. Aquele versado na técnica reconhecerá que muitos métodos podem ser utilizados na prática da presente invenção. Com efeito, a presente invenção não está, de nenhuma forma, limitada aos métodos e materiais descritos. Quaisquer referências também são incorporadas por referência neste documento em suas totalidades. As formas singulares “um”, “uma” e “o/a” estão destinadas a incluir também as formas plurais, a menos que o contexto indique de outra forma.

[0030] Conforme utilizado neste documento, o termo *Penicillium bilaii* pretende incluir todas as iterações do nome da espécie, tais como “*Penicillium bilaiiae*” e “*Penicillium bilaji*”.

[0031] Conforme utilizado neste documento, “uma população” significa pelo menos 100 plantas, 200 plantas, 500 plantas, 1000 plantas, 5000 plantas, 10.000 plantas, 50.000 plantas, 100.000 plantas

ou mais. Em um aspecto, uma população de plantas de milho pode ser plantada em pelo menos 1.000 plantas/acre, 5.000 plantas/acre, 10.000 plantas/acre, 20.000 plantas/acre, 50.000 plantas/acre, 100.000 plantas/acre ou mais. Noutro aspecto, uma população de plantas de soja pode ser plantada em pelo menos 10.000 plantas/acre, 20.000 plantas/acre, 50.000 plantas/acre, 100.000 plantas/acre, 200.000 plantas/acre ou mais. Em um aspecto, uma população de plantas de trigo pode ser plantada em pelo menos 500.000 plantas/acre. Em um aspecto adicional, uma população de algodão pode ser plantada em pelo menos 50.000 plantas/acre. Uma pessoa versada na técnica entenderá a densidade de plantação para as plantas referenciadas na presente invenção.

[0032] Conforme utilizado neste documento, “uma planta” significa uma população de plantas cultivadas em um campo que produz uma colheita.

[0033] Conforme utilizado neste documento, “uma população de sementes de milho” pode conter qualquer número, peso ou volume de sementes de milho. Por exemplo, uma população pode conter pelo menos, ou maior que, cerca de 10, 25, 50, 75, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000 ou mais sementes de milho. Alternativamente, a população pode conter, pelo menos, ou mais que, a cerca de 1 onça, 5 onças, 10 onças, 1 libra, 2 libras, 3 libras, 4 libras, 5 libras ou mais sementes de milho. Em um aspecto, a população pode conter pelo menos 5 libras, 10 libras, 25 libras, 50 libras, 100 libras ou mais sementes de milho. A presente invenção também fornece uma população de sementes de milho com um inoculante compreendendo *Penicillium bilaii* no qual pelo menos 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% ou 100% das sementes são fornecidas com o inoculante.

[0034] As populações de sementes de milho podem estar em

qualquer recipiente disponível na técnica. Conforme utilizado neste documento, “um recipiente de sementes de milho” pode conter qualquer número, peso ou volume de sementes de milho. Por exemplo, um recipiente pode conter pelo menos, ou mais que, cerca de 10, 25, 50, 75, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000 ou mais sementes de milho. Alternativamente, o recipiente pode conter, pelo menos, ou superior a cerca de 1 onça, 5 onças, 10 onças, 1 libra, 2 libras, 3 libras, 4 libras, 5 libras ou mais sementes de milho. Em um aspecto, o recipiente pode conter pelo menos 5 libras, 10 libras, 25 libras, 50 libras, 100 libras ou mais sementes de milho. A presente invenção também fornece um recipiente de sementes de milho com um inoculante compreendendo *Penicillium bilaii* no qual pelo menos 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% ou 100% das sementes são fornecidas com o inoculante. Os recipientes de sementes de milho podem estar em qualquer recipiente disponível na técnica.

[0035] Como usado neste documento, “um inoculante” inclui qualquer forma de micélios ou esporos de fungos e bactérias, amebas e archaea, que seja capaz de se propagar sobre ou no solo quando as condições de temperatura, umidade, etc., são favoráveis para o crescimento microbiano, reduzindo assim uma penalização de produção de milho sobre milho para uma planta de milho. Em um aspecto, o inoculante pode incluir mais de um micróbio. Em outro aspecto, o inoculante pode não incluir micróbios que sejam de vários gêneros.

[0036] A presente invenção também fornece um método compreendendo: a) aplicação de um inoculante compreendendo *Penicillium bilaii* a uma população de plantas de milho ou sementes de milho com necessidade de reduzir uma penalização de produção de milho sobre milho; b) crescimento ou plantação da população de plantas de milho ou sementes de milho com necessidade das mesmas em um campo no

qual o milho foi cultivado durante uma estação de crescimento que precede imediatamente o plantio da população de milho ou sementes de milho que com a necessidade das mesmas, no qual o inoculante é capaz de reduzir a penalidade de rendimento de milho sobre milho.

[0037] Em outro aspecto, um inoculante compreende *Penicillium bilaii*. Em um aspecto, uma população de plantas de milho ou parte destas é fornecida em um inoculante compreendendo *Penicillium bilaii*.

[0038] Em outro aspecto, o *Penicillium bilaii* está presente em uma quantidade de 1×10^1 a 1×10^{15} cfu/semente.

[0039] Em um aspecto, uma quantidade eficaz de um inoculante compreendendo *Penicillium bilaii* é suficiente para causar uma redução da penalização de produção de milho sobre milho ou outra característica agrícola desejada. A quantidade eficaz real em valor absoluto depende de fatores incluindo, mas não limitados a, tamanho (por exemplo, a área, acres totais etc.) do terreno para aplicação com *Penicillium bilaii*, interações antagônicas ou sinérgicas entre outros ingredientes inertes ou ativos.

[0040] Sem ser limitado por qualquer teoria, *Penicillium bilaii* pode, em um aspecto, ativar genes simbióticos e de desenvolvimento que resultam em uma mudança na arquitetura ou fisiologia da raiz da planta. Em outro aspecto, *Penicillium bilaii* impulsiona os processos naturais de crescimento, que melhoram o desempenho das culturas.

[0041] Em um aspecto, o *Penicillium bilaii* é um microorganismo conhecido que foi previamente depositado na American Type Culture Collection em Rockville, MD, EUA sob o número de depósito ATCC 22348 (edição de 1974 do catálogo ATCC; sob o nome de "*Penicillium bilaiae*"). No catálogo de 1984, o mesmo número de depósito é usado para *Penicillium bilaii* e uma outra cepa é identificada pelo número de depósito 18309.

[0042] Em outro aspecto, outros isolados de *Penicillium bilaii* são

depositados na ATCC sob o número de depósito 20851, de acordo com os termos do Tratado de Budapeste. Neste depósito o fungo foi nomeado *P. bilaji* e os detalhes taxonômicos e seu uso foram descritos na Patente US nº 5.026.417. Esta cepa foi agora depositada novamente como NRRL 50169. Para informações completas do depósito, veja a última página da descrição.

[0043] Em outro aspecto, um novo isolado de *Penicillium bilaii* foi feito como número de depósito NRRL 50162. Para obter informações completas sobre o depósito, consulte a última página da descrição e os detalhes taxonômicos desse isolado, seu uso proposto sendo descrito no pedido provisório US depositado em 10 de janeiro de 2008 sob o nome de CSIRO.

[0044] Em um aspecto, outros *Penicillium* spp. considerados úteis de acordo com a presente invenção são cepas de *P. gaestrivorus*. Uma tal cepa é depositada como NRRL 50170.

[0045] Em um aspecto, a descrição se refere a um modo para aumentar a disponibilidade de fósforo para a absorção de plantas a partir do solo, cujo método compreende a introdução no solo de um inoculante compreendendo: *Penicillium bilaii*. O fósforo pode ser fornecido a partir de uma fonte selecionada do grupo que consiste em fontes originalmente presentes no solo e fontes adicionadas ao solo como emendas e combinações das mesmas.

[0046] Em outro aspecto, o inoculante compreende ainda um fungo *Penicillium* selecionado a partir do grupo constituído por *P. albidum*, *P. aurantiogriseum*, *P. chrysogenum*, *P. citreonigrum*, *P. citrinum*, *P. digitatum*, *P. frequentas*, *P. fuscum*, *P. gaestrivorus*, *P. glabrum*, *P. griseofulvum*, *P. implicatum*, *P. janthinellum*, *P. lilacinum*, *P. minioluteum*, *P. montanense*, *P. nigricans*, *P. oxalicum*, *P. pinetorum*, *P. pinophilum*, *P. purpurogenum*, *P. radicans*, *P. radicum*, *P. raistrickii*, *P. rugulosum*, *P. simplicissimum*, *P. solitum*, *P. variable*, *P. velutinum*, *P.*

viridicatum, *P. glaucum*, *P. fussiporus* e *P. expansum*.

[0047] Em outro aspecto, o *Penicillium bilaii* é selecionado a partir do grupo de cepas depositadas consistindo de ATCC 20851, NRRL 50169, ATCC 22348, ATCC 18309, NRRL 50162. Em outro aspecto, as cepas de *Penicillium bilaii* são NRRL 50169 e NRRL 50162. Exemplos não limitativos de *Penicillium bilaii* que podem ser úteis em inoculantes da presente invenção incluem *Penicillium bilaii* ATCC 18309, *Penicillium bilaii* ATCC 20851, *Penicillium bilaii* ATCC 22348, *Penicillium bilaii* NRRL 50162, *Penicillium bilaii* NRRL 50169, *Penicillium bilaii* NRRL 50776, *Penicillium bilaii* NRRL 50777, *Penicillium bilaii* NRRL 50778, *Penicillium bilaii* NRRL 50779, *Penicillium bilaii* NRRL 50780, *Penicillium bilaii* NRRL 50781, *Penicillium bilaii* NRRL 50782, *Penicillium bilaii* NRRL 50783, *Penicillium bilaii* NRRL 50784, *Penicillium bilaii* NRRL 50785, *Penicillium bilaii* NRRL 50786, *Penicillium bilaii* NRRL 50787, *Penicillium bilaii* NRRL 50788, *Penicillium bilaii* RS7B-SD1 e suas combinações, bem como *Penicillium bilaii* tendo pelo menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais de identidade com qualquer uma das cepas acima mencionadas com base na identidade da sequência de rDNA 16S.

[0048] Em um aspecto, os fungos de *Penicillium* de acordo com a descrição e em particular as cepas específicas, ATCC20851, NRRL 50169, NRRL 50170 e NRRL 50162 podem ser crescidos utilizando fermentação no estado sólido ou líquido e uma fonte de carbono adequada. Os isolados de *Penicillium* podem ser cultivados utilizando qualquer método adequado conhecido daquele versado na técnica. Por exemplo, o fungo pode ser cultivado em um meio de crescimento sólido tal como ágar de dextrose de batata ou ágar de extrato de malte ou em frascos contendo meio líquido adequado, como meio Czapek-Dox ou caldo batata dextrose. Estes métodos de cultura podem ser utilizados na preparação de um inoculante de *Penicillium* spp. para revestimento

de sementes e/ou aplicação ao transportador a ser aplicado ao solo.

[0049] Em um aspecto, a produção em estado sólido de esporos de *Penicillium* pode ser conseguida pela inculação de um meio sólido tal como um substrato à base de turfa ou vermiculite ou grãos que incluem, mas não limitados a aveia, trigo, cevada ou arroz. O meio esterilizado (obtido através de autoclavagem ou irradiação) é inoculado com uma suspensão de esporos (1×10^2 - 1×10^7 ufc/ml) do *Penicillium* spp. adequado e a umidade ajustada para 20 a 50%, dependendo do substrato. O material é incubado por 2 a 8 semanas à temperatura ambiente. Os esporos também podem ser produzidos por fermentação líquida (Cunningham *et al.* 1990 *Can. J. Bot.* 68: 2270-2274). A produção de líquido pode ser conseguida pelo cultivo do fungo em qualquer meio adequado, tal como caldo de dextrose de batata ou meio de extrato de levedura de sacarose, sob condições adequadas de pH e temperatura (como pode ser realizado por qualquer versado na técnica).

[0050] Em outro aspecto, o material resultante pode ser usado diretamente como tratamento de sementes ou os esporos podem ser colhidos, concentrados por centrifugação, formulados e depois secos usando técnicas de secagem ao ar, liofilização ou secagem em leito fluidizado (Friesen T., Hill G., Pugsley T., Holloway G., e Zimmerman D. 2005, Experimental determination of viability loss of *Penicillium bilaii* conidia during convective air-drying *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 68: 397-404) para produzir um pó molhável. O pó molhável é então suspenso em água, aplicado à superfície das sementes e deixado secar antes do plantio. O pó molhável pode ser utilizado em conjunto com outros tratamentos de sementes, tais como, mas não limitados a tratamentos químicos de sementes, transportadores (por exemplo, talco, argila, caulín, sílica gel, caulinita) ou polímeros (por exemplo, metilcelulose, polivinilpirrolidona). Alternativamente, uma suspensão de esporos do *Penicillium* spp. aplicado pode ser aplicada a um portador adequado

compatível com o solo (por exemplo, pó ou grânulo à base de turfa) ao teor adequado de umidade final. O material é incubado à temperatura ambiente por 2 a 8 semanas e pode ser aplicado ao solo no sulco junto com a semente.

[0051] Em um aspecto, uma fonte de fósforo é adicionada ao solo. De acordo com outros aspectos da descrição, a fonte de fósforo compreende uma fonte de fósforo nativa do solo ou em outro aspecto a fonte de fósforo é adicionada ao solo. Em um aspecto, a fonte é o fosfato de rocha. Em outro aspecto, a fonte é um fertilizante fabricado.

[0052] Os fertilizantes de fosfato fabricados comercialmente disponíveis são de muitos tipos. Alguns comuns são aqueles que contêm fosfato mono-amônico (MAP), super fosfato triplo (TSP), fosfato diamônico, superfosfato ordinário e polifosfato de amônio. Por meio da presente invenção, pode ser possível reduzir a quantidade desses fertilizantes aplicados no solo ao passo que se mantêm a mesma quantidade de absorção de fósforo a partir do solo.

[0053] Em outro aspecto, a fonte ou o fósforo é orgânico. Um adubo orgânico refere-se a uma alteração do solo derivada a partir de fontes naturais que garantem, pelo menos, percentagens mínimas de nitrogênio, de fosfato e/ou potássio. Exemplos incluem subprodutos de plantas e animais, pós de rocha, algas, inoculantes e condicionadores. Estes são muitas vezes disponíveis em centros de jardim e através de empresas de fornecimento hortícola. Em particular, a fonte orgânica de fósforo é a partir de farinha de ossos, farinha de carne, esterco animal, composto, lodo de esgoto, guano ou combinações destes. Outros fertilizantes, tais como fontes de nitrogênio ou outras emendas do solo podem também ser adicionados ao solo aproximadamente ao mesmo tempo que o fungo de *Penicillium* ou em outros momentos, desde que os outros materiais não sejam tóxicos para o fungo.

[0054] Como o fungo tem o efeito de solubilizar fosfatos que já

podem estar presentes no solo (ou seja, aqueles que são nativos do solo) e também aqueles que são adicionados ao solo, o fungo pode ser aplicado sozinho a solos que contenham fontes nativas de fósforo ou pode ser aplicado a quaisquer solos em conjunto com fontes adicionais de fósforo. Os inoculantes compreendendo as cepas fúngicas de acordo com a descrição podem, como descrito acima, ser proporcionados utilizando fermentação em estado sólido ou líquido e uma fonte de carbono adequada.

[0055] Em um aspecto, a quantidade do inoculante a ser aplicada ao solo não é limitada em nenhum aspecto particular. Claramente, se uma quantidade insuficiente for usada, um efeito perceptível não será obtido. Por outro lado, o uso de grandes quantidades do inoculante será um desperdício, porque as quantidades de fósforo e/ou micronutrientes disponibilizados no solo atingem um máximo a uma certa taxa de aplicação e acréscimos adicionais além dessa taxa não oferecem benefícios adicionais. As taxas de aplicação adequadas variam de acordo com o tipo de solo, o tipo de plantas cultivadas, as quantidades da fonte de fósforo ou micronutrientes ou ambos presentes no solo ou adicionados a elas, etc. e uma taxa adequada pode ser encontrada sem dificuldade por simples experiências de tentativa e erro para cada caso particular. Normalmente, a taxa de aplicação cai na faixa de 0,001-1,0 Kg esporos de fungos e micélio (peso fresco) por hectare, 10^1 - 10^8 , ou 10^2 - 10^6 unidades de formação de colônias (ufc) por semente (quando são utilizadas sementes revestidas) ou em um transportador granular pela aplicação de entre 1×10^6 e 1×10^{11} unidades de formação de colônias por hectare.

[0056] As células fúngicas na forma de esporos e, opcionalmente, com um transportador, podem ser adicionadas a uma linha de sementes do solo ao nível da raiz ou podem ser utilizadas para revestir as sementes antes do plantio. Quando esporos são adicionados ao solo,

uma formulação granular será preferível. Formulações como líquido, turfa ou pó molhável serão adequadas para o revestimento de sementes. Quando usado para revestir sementes, o material pode ser misturado com água, aplicado nas sementes e deixado secar. Outros portadores dos esporos podem ser usados para revestir sementes. Por exemplo, os esporos podem ser cultivados em farelo umedecido, secos, peneirados e aplicados a sementes previamente revestidas com um adesivo, por exemplo, goma arábica. O transportador deve preferencialmente ser um transportador compatível com o solo. O termo “compatível com o solo” significa qualquer material que possa ser adicionado ao solo sem ter um efeito adverso no crescimento da planta, estrutura do solo, drenagem do solo ou semelhante. Os veículos adequados compreendem, mas não se limitam a palha de trigo, farelo, palha de trigo moída, pós ou grânulos à base de turfa, grânulos à base de gesso e argilas (por exemplo, caulino, bentonita, montmorilonita).

[0057] Os transportadores adequados incluem água, soluções aquosas, pastas, sólidos (por exemplo, turfa, trigo, farelo, vermiculite e solo pasteurizado) ou pós secos. Particularmente, o transportador pode, em um aspecto, compreender um líquido contendo um nutriente para o fungo.

[0058] O inoculante pode conter aditivos adicionais, incluindo agentes tamponador, agentes molhantes, agentes de revestimento e agentes abrasivos.

[0059] Em um aspecto, uma população de plantas de milho ou sementes de milho são fornecidas em um inoculante. Em um aspecto, o inoculante é fornecido como um revestimento de sementes. Em outro aspecto, o inoculante é fornecido a uma semente plantada, por exemplo, no solo. Em outro aspecto, a composição é fornecida a um tecido verde, acima do solo, de uma planta. Em outro aspecto, um ou mais inoculantes são aplicados a semente e a um tecido verde. Em outro aspecto,

diferentes inoculantes são aplicados ao tecido verde e sementes da mesma planta. Tais aplicações podem ser em tempos ou estágios de crescimento semelhantes ou em tempos ou estágios de crescimento diferentes. Tais aplicações podem ser programadas para corresponder às condições ambientais.

[0060] Em outro aspecto, o inoculante é aplicado às sementes de milho antes do plantio. Em outro aspecto, o inoculante é aplicado ao solo antes do plantio. Em outro aspecto, o inoculante é aplicado às sementes de milho durante o plantio. Em um aspecto, o inoculante é fornecido às sementes de milho antes do plantio. Em um aspecto, o inoculante é aplicado ao solo antes do estágio de desenvolvimento V1. Em um aspecto, o inoculante é aplicado à folhagem de plantas de milho germinando a partir das sementes de milho antes do estágio de desenvolvimento V1.

[0061] Em um aspecto, a aplicação do inoculante é selecionada a partir do grupo que consiste em revestir as sementes de milho com o inoculante antes do plantio, aplicar o inoculante ao solo do campo antes do plantio, aplicar o inoculante ao solo do campo no plantio, aplicar o inoculante ao solo após o plantio e aplicar o inoculante à folhagem de uma população de plantas de milho crescendo no campo. Em um aspecto, a aplicação é aplicar o inoculante no sulco. Em um aspecto, a aplicação é aplicar o inoculante à população de sementes de milho como um revestimento de sementes.

[0062] Em um aspecto, a aplicação de qualquer inoculante ou etapa de método pode ser realizada, em sua totalidade, por um agricultor, um trabalhador agrícola, um operário, um distribuidor de sementes, uma empresa agroquímica, uma empresa de tecnologia agrícola ou quaisquer outras partes situadas similarmente.

[0063] Em um aspecto, qualquer semente ou planta pode ser tratada ou utilizada. Em um aspecto, a semente é uma semente de milho

e a planta é uma planta de milho. Em um aspecto, o milho inclui *Zea mays* ou milho e inclui todas as variedades de plantas que podem ser produzidas com milho. Noutro aspecto, uma planta de milho é uma planta comercial disponível a agricultores. Noutro aspecto, uma planta ou semente de milho pode ser uma semente ou planta de elite. Noutro aspecto, uma planta de milho pode ser um híbrido. Em um aspecto adicional, uma planta de milho pode ser uma endogâmica.

[0064] Em um aspecto, qualquer parte da planta apropriada pode ser tratada ou utilizada incluindo órgãos da planta (por exemplo, folhas, caules, raízes etc.), sementes e células vegetais e progênie das mesmas.

[0065] Em outro aspecto, um inoculante pode estar na forma de um revestimento de sementes. Qualquer revestimento de semente apropriado pode ser utilizado. Em um aspecto, a forma líquida, suspensa ou em pó (por exemplo, pó molhável) pode ser adequada para o revestimento de sementes. Em um aspecto, quando utilizado para revestir sementes, o inoculante pode ser aplicado às sementes e deixado secar. Em um aspecto no qual o inoculante é um pó (por exemplo, um pó molhável), um líquido, tal como água, pode ser adicionado ao pó antes de aplicar a uma semente.

[0066] Em outro aspecto, um tratamento envolve revestir sementes com pelo menos duas, três, quatro, cinco ou mais composições. Um processo ilustrativo envolve revestir a parede interna de um recipiente redondo com o inoculante, adicionar sementes, em seguida, girar o recipiente para fazer com que as sementes entrem em contato com a parede e o inoculante, um processo conhecido na técnica como “revestimento de recipiente”. As sementes podem ser revestidas por meio de combinações de métodos de revestimento. Embeber envolve, normalmente, a utilização de uma solução aquosa contendo o agente de aprimoramento de crescimento de planta. Por exemplo, as sementes

podem ser embebidas por cerca de 1 minuto a cerca de 24 horas (por exemplo, durante pelo menos 1 min, 5 min, 10 min, 20 min, 40 min, 80 min, 3 h, 6 hr, 12 h ou 24 h). Em um aspecto, o embebedamento é tipicamente realizado durante cerca de 1 minuto a cerca de 20 minutos.

[0067] Em um aspecto, as sementes podem ser armazenadas após a aplicação. Em um aspecto, a eficácia do revestimento de sementes pode ser retida durante, pelo menos, 50, 60, 70, 80, 90% ou mais 6 meses após o revestimento das sementes com o inoculante.

[0068] Em um aspecto, um inoculante, incluindo aqueles que compreendem *Penicillium bilaii* é capaz de se difundir em direção a um jovem radical em desenvolvimento.

[0069] Em um aspecto, inoculantes contendo o *Penicillium bilaii* podem ainda conter um agente aderente ou de revestimento. Em um aspecto, inoculantes podem, adicionalmente, conter um polímero de revestimento e/ou um corante.

[0070] Em um aspecto, pelo menos dois inoculantes diferentes são aplicados a sementes (direta ou indiretamente) ou à planta através do mesmo inoculante (isto é, são formuladas em conjunto). Em um aspecto, pelo menos dois inoculantes diferentes podem ser utilizados. Em um aspecto, dois inoculantes diferentes contêm pelo menos dois *Penicillium bilaii*. Em pelo menos um aspecto, inoculantes diferentes podem ser formulados separadamente e ambas as composições são aplicadas a uma semente ou planta. Em outro aspecto, um inoculante diferente é aplicado às sementes, em seguida é aplicado a diferentes partes das plantas, por exemplo, sem limitação, ao tecido verde.

[0071] Em um aspecto, as sementes podem ser tratadas com qualquer inoculante e, em um aspecto particular, um *Penicillium bilaii* de várias maneiras, incluindo, sem limitação, através de pulverização ou gotejamento. O tratamento por pulverização e por gotejamento pode ser conduzido, por exemplo, formulando uma quantidade eficaz de qualquer

inoculante incluindo, sem limitação, um *Penicillium bilaii* em um transportador agronomicamente aceitável, tipicamente de natureza aquosa e pulverizando ou gotejando o inoculante na semente através de um sistema de tratamento contínuo (que é calibrado para aplicar o tratamento a uma taxa pré-definida em proporção ao fluxo contínuo da semente), como um tipo tambor de tratador. Tais métodos incluem aqueles que podem, vantajosamente, empregar volumes relativamente pequenos de transportadores de modo a permitir uma secagem relativamente rápida da semente tratada. Grandes volumes de sementes podem ser tratados eficientemente. Sistemas de lote, nos quais um tamanho de lote predeterminado de sementes e inoculantes de moléculas de sinal são transmitidos dentro de um misturador, podem também ser empregados. Sistemas e aparelhos para realizar estes processos são comercialmente disponíveis a partir de vários fornecedores, por exemplo, o Bayer CropScience (Gustafson).

[0072] Um inoculante pode, em um aspecto, compreender pelo menos dois, três, quatro, cinco ou mais *Penicillium bilaii*, que podem ser aplicados imediatamente antes, no momento do plantio ou após o plantio. O tratamento no momento da plantação inclui, sem limitação, a aplicação direta à semente e a introdução dos *Penicillium bilaii* no solo. Tais tratamentos incluem, sem limitação, tratamento de sulco. Em um aspecto, as sementes podem ser, então, embaladas, por exemplo, em sacos de 50 libras ou 100 libras, ou em recipientes ou sacos a granel, de acordo com técnicas padrão. Em um aspecto, as sementes tratadas podem ser armazenadas por, pelo menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12 meses e mais tempo, por exemplo, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36 meses ou mais tempo, sob condições de armazenamento adequadas que são conhecidas na técnica.

[0073] Em um aspecto, um inoculante contém uma quantidade

eficaz de um ingrediente. Em um aspecto, uma quantidade eficaz da composição contendo *Penicillium bilaii* utilizado para tratar a semente, expressa em unidades de peso, pode ser qualquer quantidade, mas em um aspecto varia de cerca de 1 a cerca de 400 g/quintal curto (cwt) de sementes e em outro aspecto de cerca de 2 a cerca de 70 g/cwt e em um outro aspecto, de cerca de 2,5 a cerca de 3,0 g/cwt de semente. Em um aspecto, os microorganismos estão presentes em uma quantidade que varia de cerca de 1×10^1 a cerca de 1×10^{20} unidades formadoras de colônias (ufc) por grama. Por exemplo, as composições de inoculantes da presente invenção podem compreender cerca de 1×10^1 , 1×10^2 , 1×10^3 , 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 , 1×10^{10} , 1×10^{11} , 1×10^{12} , 1×10^{13} , 1×10^{14} , 1×10^{15} ou mais ufc de microorganismos agricolamente benéficos por semente (por exemplo, cerca de 1×10^4 a cerca de 1×10^9 ufc/g de *Penicillium bilaii*). Em algumas modalidades, uma quantidade eficaz da composição contendo *Penicillium bilaii* está presente em uma quantidade que varia de cerca de 1×10^1 a cerca de 1×10^{20} ufc por oz. Por exemplo, as composições de inoculantes da presente invenção podem compreender cerca de 1×10^1 , 1×10^2 , 1×10^3 , 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 , 1×10^{10} , 1×10^{11} , 1×10^{12} , 1×10^{13} , 1×10^{14} , 1×10^{15} ou mais ufc de microorganismos agricolamente benéficos por oz da composição do inoculante (por exemplo, cerca de 1×10^4 a cerca de 1×10^9 cfu/oz de *Penicillium bilaii*).

[0074] Em um aspecto, um tratamento de sementes pode ser direto ou indireto. Para fins de tratamento indireto de sementes, pode ser incluído, sem limitação, um tratamento em sulco cuja quantidade eficaz pode ser qualquer quantidade eficaz do ingrediente ativo e, em um aspecto, a composição contendo *Penicillium bilaii* pode variar a partir de 1 g/acre a cerca de 70 g/acre e, em outro aspecto, a partir de cerca de 50 g/acre a cerca de 60 g/acre. Para fins de aplicação direta às plantas,

uma quantidade eficaz pode ser qualquer quantidade eficaz e, em um aspecto e para uma quantidade eficaz da composição contendo *Penicillium bilaii*, pode variar a partir de 1 g/acre a cerca de 30 g/acre e, em um aspecto adicional, a partir de cerca de 11 g/acre a cerca de 20 g/acre. Em outro aspecto, o inoculante *Penicillium bilaii* pode variar de cerca de 1×10^6 a cerca de 1×10^8 cfu por quilo de sementes. Em um aspecto, o inoculante *Penicillium bilaii* está presente em uma quantidade de cerca de $1,7 \times 10^7$ cfu por quilo de sementes.

[0075] Em um aspecto, o inoculante é revestido na semente, onde o inoculante é revestido a uma taxa na faixa de cerca de 0,25 a 1 fl oz/cwt e em outra modalidade a uma taxa de cerca de 0,5 fl oz/cwt (0,9 mg/semente) de uma quantidade eficaz da composição contendo *Penicillium bilaii*.

[0076] Em um aspecto, o inoculante é aplicado no sulco ou no solo do campo antes do plantio a uma taxa em uma faixa de cerca de 8 a 16 onças por acre.

[0077] Em um aspecto, o inoculante é aplicado à folhagem de uma planta de milho crescendo no campo a uma taxa de cerca de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 ou mais onças por acre da composição contendo *Penicillium bilaii*.

[0078] Em outra modalidade, os inoculantes e métodos descritos neste documento incluem um pesticida. O pesticida pode ser, por exemplo, um inseticida, um fungicida, um herbicida ou um nematicida.

Micro-organismos

[0079] Em outro aspecto, os micro-organismos podem ser incluídos nos inoculantes e métodos divulgados neste documento. Exemplos de micróbios incluem bactérias do gênero *Rhizobium* spp. (por exemplo,, *R. cellulosilyticum*, *R. daejeonense*, *R. etli*, *R. galegae*, *R. gallicum*, *R. giardinii*, *R. hainanense*, *R. huautlense*, *R. indigoferae*, *R. leguminosarum*, *R. loessense*, *R. lupini*, *R. lusitanum*, *R. meliloti*, *R.*

mongolense, *R. miluonense*, *R. sullae*, *R. tropici*, *R. undicola*, e/ou *R. yanglingense*), *Bradyrhizobium* spp. (e.g., *B. betae*, *B. canariense*, *B. elkanii*, *B. iriomotense*, *B. japonicum*, *B. jicamae*, *B. liaoningense*, *B. pachyrhizi* e/ou *B. yuanmingense*), *Azorhizobium* spp. (e.g., *A. caulinodans* e/ou *A. doebereineriae*), *Sinorhizobium* spp. (e.g., *S. abri*, *S. adhaerens*, *S. americanum*, *S. aboris*, *S. fredii*, *S. indiaense*, *S. kostiense*, *S. kummerowiae*, *S. medicae*, *S. meliloti*, *S. mexicanus*, *S. morelense*, *S. saheli*, *S. terangae*, e/ou *S. xinjiangense*), *Mesorhizobium* spp., (*M. albiziae*, *M. amorphae*, *M. chacoense*, *M. ciceri*, *M. huakuii*, *M. loti*, *M. mediterraneum*, *M. pluifarium*, *M. septentrionale*, *M. temperatum* e/ou *M. tianshanense*) e combinações dos mesmos. Em outro aspecto, o micro-organismo é aplicado em uma taxa de cerca de 1×10^2 , 5×10^2 , 1×10^3 , 5×10^3 , 1×10^4 , 5×10^4 , 1×10^5 , 5×10^5 , 1×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 ou 1×10^8 unidades formadoras de colônia por semente.

[0080] O inoculante pode incluir um micro-organismo adicional que melhora a mobilização de P orgânico (fitase), eficiência de utilização de nitrogênio, disponibilidade de micronutrientes ou é um micro-organismo solubilizante de fosfato.

[0081] Conforme utilizado neste documento, o termo “solubilização de fosfato” pretende significar a conversão de fosfato insolúvel (por exemplo, fosfato de rocha etc.) em uma forma de fosfato solúvel.

[0082] Conforme utilizado neste documento, “micro-organismo solubilizador de fosfato” é um micro-organismo que pode aumentar a quantidade de fósforo disponível para uma planta, incluindo, mas não limitado a, aumento de fósforo no solo. Os micro-organismos solubilizadores de fosfato incluem espécies microbianas bacterianas e fúngicas. Exemplos não limitativos de micro-organismos solubilizantes de fosfato incluem, sem limitação, espécies de gênero selecionado do grupo que consiste de *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Arthrobotrys*, *Aspergillus*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *chryseomonas*,

Enterobacter, *Eupenicillium*, *Exiguobacterium*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Microbacterium*, *Mucor*, *Paecilomyces*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Stenotrophomonas*, *Streptomyces*, *Streptosporangium*, *Swaminathania*, *Thiobacillus*, *Torulospora*, *Vibrio*, *Xanthobacter* e *Xanthomonas*.

[0083] Exemplos não limitantes de micro-organismos solubilizadores de fosfato também podem ser selecionados a partir do grupo que consiste em *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter* sp., *Arthrobacter* sp., *Arthrobotrys oligospora*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus* sp., *Azospirillum halopraeferans*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus atrophaeus*, *Bacillus circulans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia vietnamiensis*, *Candida krissi*, *Chryseomonas luteola*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter asburiae*, *Enterobacter* sp., *Enterobacter taylorae*, *Eupenicillium parvum*, *Exiguobacterium* sp., *Klebsiella* sp., *Kluyvera cryocrescens*, *Microbacterium* sp., *Mucor ramosissimus*, *Paecilomyces hepialid*, *Paecilomyces marquandii*, *Paenibacillus macerans*, *Paenibacillus mucilaginosus*, *Pantoea aglomerans*, *Penicillium expansum*, *Pseudomonas corrugate*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas lutea*, *Pseudomonas poae*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas trivialis*, *Serratia marcescens*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Streptomyces* sp., *Streptosporangium* sp., *Swaminathania salitolerans*, *Thiobacillus ferrooxidans*, *Torulospora globosa*, *Vibrio proteolyticus*, *Xanthobacter agilis* e *Xanthomonas campestris*.

Herbicidas

[0084] Conforme utilizado neste documento, o termo “herbicida(s)” significa qualquer agente, ou combinação de agentes, capaz de matar ervas daninhas e/ou inibir o crescimento de ervas daninhas (sendo a inibição reversível sob certas condições). Herbicidas podem ser

utilizados em um aspecto da presente invenção. Em um aspecto, um herbicida pode ser utilizado em combinação com uma composição da presente invenção ou uma parte de um método da presente invenção.

[0085] Herbicidas adequados utilizados nas composições e métodos divulgados neste documento incluem acetocloro, cletodim, dicamba, flumioxazina, fomesafen, mesotriona, quizalofop, saflufenacil, sulcotriona, S-3100 e 2,4-D, bentazon, acifluorfen, clorimuron, lactofen, clomazona, fluazifop, glufosinato, glifosato, setoxidim, imazetapir, imazamox, fomesafe, flumiclorac, imazaquin e cletodim. Produtos comerciais contendo cada um desses compostos estão prontamente disponíveis. A concentração de herbicidas no inoculante corresponde, em geral, à taxa de utilização marcada para um determinado herbicida.

[0086] Em um aspecto, as composições descritas neste documento podem compreender, adicionalmente, um ou mais herbicidas. Herbicidas adequados incluem, sem limitação, herbicidas químicos, herbicidas naturais (por exemplo, bioherbicidas, herbicidas orgânicos etc.), ou combinações destes. Exemplos não limitativos de herbicidas adequados incluem, sem limitação, bentazon, acifluorfen, clorimuron, lactofen, clomazone, fluazifop, glufosinato, glifosato, setoxidim, imazetapir, imazamox, fomesafe, flumiclorac, imazaquin, cletodim, pendimethalin; 3,4-Dimetil-2,6-dinitro-N-pentan-3-il-anilina; N-(1-etilpropil)-2,6-dinitro-3,4-xilidina; pronamida; propizamida; 3,5-Dicloro-N-(1,1-dimetilpropinil)benzamida; 3,5-Dicloro-N-(1,1-dimetil-2-propinil)benzamida; N-(1,1-dimetilpropinil)-3,5-diclorobenzamida; S-etilo N-etiltiociclohexanocarbamato; trifluralina; 2,6-dinitro-N,N-dipropil-4-(trifluorometil)anilina; glifosato; N-(fosfonometil) glicina; e derivados destes. Em um aspecto, o um ou mais herbicidas para utilização, de acordo com esta descrição, incluem, sem limitação, pronamida (comercialmente referenciada como Kerb[®]); propizamida; 3,5-Dicloro-N-(1,1-dimetilpropinil)benzamida; 3,5-Dicloro-N-(1,1-dimetil-2-

propinil)benzamida; N-(1,1-dimetilpropinil)-3,5-diclorobenzamida; cicloato, S-etil-N-etiltiociclohexanocarbamato (comercialmente referenciado como Ro-Neet®); trifluralina; 2,6-dinitro-N, N-dipropil-4-(trifluorometil) anilina; glifosato; N- (fosfonometil) glicina; e derivados dos mesmos. Produtos comerciais contendo cada um desses compostos estão prontamente disponíveis. A concentração de herbicidas no inoculante corresponde, em geral, à taxa de utilização marcada para um determinado herbicida.

Fungicida(s)

[0087] Conforme utilizado neste documento, o termo “fungicida(s)” significa qualquer agente ou combinação de agentes capazes de matar fungos e/ou inibir o crescimento fúngico. Fungicidas podem ser utilizados em um aspecto da presente invenção. Em um aspecto, um fungicida pode ser utilizado em combinação com um inoculante da presente invenção ou uma parte de um método da presente invenção.

[0088] Em um aspecto, os inoculantes descritos neste documento podem compreender, adicionalmente, um ou mais de um fungicida. Os fungicidas úteis para os inoculantes descritos neste documento apresentarão, adequadamente, atividade contra uma vasta faixa de patogênicos, incluindo, mas não limitados a, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Pythium*, *Phomopsis* ou *Sclerotinia* e *Phakopsora* combinações destes.

[0089] Exemplos não limitantes de fungicidas úteis incluem hidrocarbonetos aromáticos, benzimidazoles, benzotiadiazol, carboxamidas, amidas de ácido carboxílico, morfolinas, fenilamidas, fosfonatos, inibidores externos de quinona (por exemplo, estrobilurinas), tiazolidinas, tiofanatos, tiofeno carboxamidas e triazóis. Exemplos particulares de fungicidas incluem acibenzolar-S-metila, azoxistrobina, benalaxilo, bixafen, boscalide, carbendazim, ciproconazol, dimetomorfe, epoxiconazol, fludioxonil, fluopiram, fluoxastrobina, flutianil, flutolanil,

fluxapirroxade, fosetil-Al, ipconazol, isopirazolam, cresoxim-metil, mefenoxam, metalaxil, metconazol, miclobutanil, orisastrobin, penflufen, pentiopirrad, picoxistrobina, propiconazola, protioconazola, piraclostrobina, sedaxano, siltiofam, tebuconazol, tiabendazol, tifluzamida, tiofanato, tolclofos-metil, trifloxistrobina e triticonazol. Em um aspecto, o fungicida inclui piraclostrobina, propiconazola, trifloxistrobina, azoxistrobina, fluxapirroxade e combinações destes.

[0090] Exemplos não limitantes de fungicidas comerciais que podem ser adequados para os inoculantes divulgados neste documento incluem, sem limitação, PROTÉGÉ, RIVAL ou ALLEGIANCE FL ou LS (Gustafson, Plano, Tex.), WARDEN RTA (Agrilance, St. Paul, Minn.), APRON XL, APRON MAXX RTA ou RFC, MAXIM 4FS ou XL (Syngenta, Wilmington, Del.), CAPTAN (Arvesta, Guelph, Ontário) e PROTREAT (Nitragin Argentina, Buenos Aires, Argentina). Os ingredientes ativos nestes e em outros fungicidas comerciais incluem, mas não estão limitados a fludioxonil, mefenoxam, azoxistrobina e metalaxil. Os fungicidas comerciais são mais adequadamente utilizados de acordo com as instruções do fabricante nas concentrações recomendadas.

Inseticida(s)/Nematicida(s)/Acaricida(s)

[0091] Conforme utilizado neste documento, o termo “inseticida(s)” significa qualquer agente ou combinação de agentes capazes de matar um ou mais insetos e/ou inibir o crescimento de um ou mais insetos. Inseticidas podem ser utilizados em um aspecto da presente invenção. Em um aspecto, um inseticida, nematicida ou acaricida pode ser utilizado em combinação com um inoculante da presente invenção ou uma parte de um método da presente invenção.

[0092] Conforme utilizado neste documento, o termo “nematicidas” significa qualquer agente ou combinação de agentes capazes de matar um ou mais nematóides e/ou inibir o crescimento de um ou mais nematóides. Nematicidas podem ser utilizados em um aspecto da presente

invenção.

[0093] Conforme utilizado neste documento, o termo “acaricida(s)” significa qualquer agente ou combinação de agentes capazes de matar um ou mais ácaros e/ou inibir o crescimento de um ou mais ácaros. Acaricidas podem ser utilizados em um aspecto da presente invenção.

[0094] Em um aspecto, os inoculantes descritos neste documento podem compreender, adicionalmente, um ou mais inseticidas, acaricidas, nematocidas ou combinações destes. Inseticidas úteis para os inoculantes descritos neste documento exibirão, adequadamente, atividade contra uma ampla gama de insetos incluindo, mas não limitados a, vermes filiformes, lagartas, larvas, lagarta da raiz do milho, vermes do milho de sementes, besouro saltador, percevejos, pulgões, besouros de folha, percevejos e combinações destes. Os inseticidas, acaricidas e nematocidas descritos neste documento podem ser químicos ou naturais (por exemplo, soluções biológicas, tais como pesticidas fúngicos etc.).

[0095] Exemplos não limitativos de inseticidas e nematocidas incluem carbamatos, diamidas, lactonas macrocíclicas, neonicotinoides, organofosfatos, fenilpirazoles, piretrinas, espinosinas, piretroides sintéticos, ácidos tetrânicos e tetrônicos. Em modalidades particulares, inseticidas e nematocidas incluem abamectina, aldicarbe, aldoxicarbe, bifentrina, carbofurano, clorantropirle, clotianidina, ciflutrina, cialotrina, cipermetrina, ciantraniliprole, deltametrina, dinotefurano, emamectina, etiprole, fenamifos, fipronil, flubendiamida, fostiazato, imidacloprid, ivermectina, lambda-citotrina, milbemectina, nitenpiram, oxamila, permetrina, spinetoram, spinosad, spiroticlofena, espirotramatato, teflutrina, tiacloprida, tiametoxamo e tiodicarbe. Quantidades adequadas de inseticidas e nematocidas para utilização de acordo com a presente invenção são conhecidas na técnica.

[0096] Exemplos não limitantes de inseticidas comerciais que

podem ser adequados para os inoculantes divulgados neste documento incluem CRUISER (Syngenta, Wilmington, Del.), GAUCHO e PONCHO (Gustafson, Plano, Tex.). Ingredientes ativos nestes e outros inseticidas comerciais incluem, sem limitação, tiametoxam, clotianidina e imidacloprida. Os inseticidas comerciais são mais adequadamente utilizados de acordo com as instruções do fabricante nas concentrações recomendadas.

[0097] Exemplos não limitativos de inseticidas, acaricidas e nematocidas que pode ser úteis nos inoculantes divulgados neste documento incluem, sem limitação, carbamatos, diamidas, lactonas macrocíclicas, neonicotinoides, organofosfatos, fenilpirazoles, piretrinas, espinosinas, piretroides sintéticos, ácidos tetramicos e tetrônicos.

[0098] Em um aspecto, inseticidas, acaricidas e nematocidas incluem, sem limitação, acrinatrina, alfa-cipermetrina, betaciflutrina, cialotrina, cipermetrina, csfenalato de deltametrina, etofenprox, fenpropatrina, fenvalerato, flucitrato, fostiazato, lambda-cialotrina, gama-cialotrina, permetrina, tau-fluvalinato, transflutrina, zeta-cipermetrina, ciflutrina, bifentrina, teflutrina, eflusilanat, fubfenprox, piretrina, resmetrina, imidaclopride, acetamipride, tiametoxame, nitenpirama, tiaclopride, dinotefurano, clotianidina, imidacloprida, clorfluazuron, diflubenzuron, lufenuron, teflubenzuron, triflumuron, novaluron, flufenoxur, hexaflumuron, bistrifluoruron, noviflumuron, buprofezina, ciromazina, metoxifenoazida, tebufenoazida, halofenoazida, cromafenoazida, endosulfano, fipronila, etiprole, pirafloprole, piriprole, flubendiamida, clorantropirrole (Rynaxypyr), clotianidina, Cyazypyr, emamectina, benzoato de emamectina, abamectina, ivermectina, milbemectina, lepimectina, tebufenpyrad, fen pyroxi mate, piridaben, fenazaquin, pirimidifen, tolfenpirade, dicofol, cienopirafeno, ciflumetofeno, acequinocila, fluacripirina, bifenazato, diafenthiuron, etoxazola, clofentezina, spinosad, triaraten, tetradifon, propargite,

hexythiazox, bromopropilato, cinometionato, amitraz, porifluquinazona, pimetrozina, flonicamida, piriproxifeno, diofenolano, clorfenapira, metaflumizona, indoxacarbe, clorpirifos, espiroclorfen, espiromesifeno, espirotetramato, piridalila, spinetoram, acefato, triazofos, profenofos, oxamila, spinetoram, fenamifos, fenamipclotiahos, 4-[[[(6-cloropiridina-3-il) metil](2,2-difluoroetil)amino}furan-2(5H)-ona, cadusafos, carbarila, carbofurano, etofosfato, tiodicarbe, aldicarbe, aldoxicarbe, metamidofos, metiocarbe, sulfoxaflor, ciantraniliprole e também produtos baseados em *Bacillus firmus* (1-1582, BioNeem, VOTiVO™) e combinações destes.

[0099] Em outro aspecto, as sementes de milho são tratadas com uma composição selecionada a partir do grupo constituído por ciantraniliprole, tiametoxam, clotianidina, imidacloprid, sedaxano, azoxistrobina, fludioxonil, metalaxil, mefenoxam, tiabendazol, protioconazol, fluoxastrobina, fluxapiraxade, fluopyram, piraclostrobina, VOTiVO™, um LCO, *Bradyrhizobium japonicum* e combinações destes.

[00100] Componentes ativos adicionais podem também compreender substâncias tais como agentes de controle biológico, extratos microbianos, produtos naturais, ativadores de crescimento de plantas ou agentes de defesa de plantas. Exemplos não limitantes de agentes de controle biológico incluem bactérias, fungos, nematódeos benéficos e vírus.

[00101] Em certas modalidades, o agente de controle biológico pode ser uma bactéria do gênero *Actinomycetes*, *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Alcaligenes*, *Aureobacterium*, *Azobacter*, *Beijerinckia*, *Brevibacillus*, *Burkholderia*, *Chromobacterium*, *Clostridium*, *Clavibacter*, *Comomonas*, *Corynebacterium*, *Curtobacterium*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Gluconobacter*, *Hydrogenophage*, *Klebsiella*, *Methylobacterium*, *Paenibacillus*, *Pasteuria*, *Phingobacterium*, *Photorhabdus*, *Phyllobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia*,

Stenotrophomonas, *Streptomyces*, *Variovorax* e *Xenorhabdus*. Em modalidades particulares, as bactérias são selecionadas a partir do grupo que consiste em *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus cereus*, *Bacillus firmus*, *Bacillus lichenformis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Bradyrhizobium japonicum*, *Chromobacterium suttsuga*, *Pasteuria nishizawae*, *Pasteuria penetrans*, *Pasteuria usage*, *Pseudomona fluorescens* e *Streptomyces lydicus*.

[00102] Em certas modalidades, o agente de controle biológico pode ser um fungo do gênero *Alternaria*, *Ampelomyces*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Beauveria*, *Colletotrichum*, *Coniothyrium*, *Gliocladium*, *Metarhizium*, *Muscodor*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Typhula*, *Ulocladium* e *Verticillium*. Em modalidades particulares, o fungo é *Beauveria bassiana*, *Coniothyrium minitans*, *Gliocladium virens*, *Metarhizium anisopliae*, *Muscodor albus*, *Paecilomyces lilacinus*, *Penicillium bilaii*, *Trichoderma polysporum* e *Trichoderma virens*.

[00103] Noutras modalidades, os agentes de controle biológico podem ser ativadores de crescimento de plantas ou agentes de defesa de plantas incluindo, mas não limitados a, harpina, *Reynoutria sachalinensis*, jasmonato, lipo-quito-oligossacarídeo e isoflavonas.

[00104] Em um aspecto, o inseticida é um inseticida microbiano. Em um aspecto mais particular, o inseticida microbiano é um inseticida fúngico. Exemplos não limitantes de inseticidas fúngicos que podem ser utilizados nas composições descritas neste documento são descritos em McCoy, C.W., Samson, RA e Coucias, DG "Fungos entomógenos". Em "CRC Handbook of Natural Pesticides. Microbial Pesticides, Part A. Entomogenous Protozoa and Fungi." (C. M. Inoffo, ed.), (1988): Vol. 5, 151-236; Samson, R. A., Evans, H.C., e Latge, J. P. "Atlas of Entomopathogenic Fungi." (Springer-Verlag, Berlin) (1988); e deFaria, M. R. e Wraight, S. P. "Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A

comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types”. *Biol. Control* (2007), doi: 10.1016/j.biocontrol.2007.08.001.

[00105] Em um aspecto, exemplos não limitativos de inseticidas fúngicos que podem ser utilizados nos inoculantes divulgados neste documento incluem, sem limitação, espécies de *Coelomicídio*, *Myiophagus*, *Coelemomyces*, *Lagenidium*, *Leptolegnia*, *Couchia*, *Sporodiniella*, *Conidiobolus*, *Entomophaga*, *Entomophthora*, *Erynia*, *Massospora*, *Meristacro*, *Neozygites*, *Pandora*, *Zoophthora*, *Blastodendrion*, *Metschnikowia*, *Micoderma*, *Ascophaera*, *Cordyceps*, *Torrubiella*, *Nectria*, *Hipocrisia*, *Calonectria*, *Filariomyces*, *Hesperomyces*, *Trenomyces*, *Myriangium*, *Podonectria*, *Akanthomyces*, *Aschersonia*, *Aspergillus*, *Beauveria*, *Culicinomyces*, *Engyodontium*, *Fusarium*, *Gibellula*, *Hirsutella*, *Hymenostilbe*, *Isaria*, *Metarhizium*, *Nomuraea*, *Paecilomyces*, *Paraisaria*, *Pleurodesmospora*, *Polycephalomyces*, *Pseudogibellula*, *Sorospora*, *Stillbella*, *Tetranacrium*, *Tilachlidium*, *Tolypocladium*, *Verticillium*, *Aegerita*, *Filobasidiella*, *Septobasidium*, *Uredinellae* combinações dos mesmos.

[00106] Exemplos não limitantes de espécies particulares que podem ser úteis como um inseticida fúngico nos inoculantes descritos neste documento incluem, sem limitação, *Trichoderma hamatum*, *Trichoderma hazarium*, *Alternaria cassiae*, *Fusarium lateritum*, *Fusarium solani*, *Lecanicillium lecanii*, *Aspergillus parasiticus*, *Verticillium lecanii*, *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*. Em um aspecto, os inoculantes divulgados neste documento podem incluir qualquer um dos inseticidas fúngicos proporcionados acima, incluindo qualquer combinação destes.

Fertilizante(s)

[00107] Conforme utilizado neste documento, “fertilizante(s)” significa qualquer material de origem natural ou sintética que seja aplicado a

solos ou a tecidos vegetais para fornecer um ou mais nutrientes vegetais essenciais para o crescimento das plantas. Fertilizantes podem ser utilizados em um aspecto da presente invenção. Em um aspecto, um fertilizante pode ser utilizado em combinação com um inoculante da presente invenção ou uma parte de um método da presente invenção.

[00108] Os fertilizantes de fosfato fabricados comercialmente disponíveis são de muitos tipos. Alguns dos mais comuns são os que contêm fosfato de rocha, fosfato de monoamônio, fosfato de diamônio, fosfato monocálcico, super fosfato, super fosfato triplo, e/ou polifosfato de amônio. Todos estes fertilizantes são produzidos por processamento químico de fosfatos de rocha naturais insolúveis em instalações de fabricação de fertilizantes em larga escala e o produto é caro. Por meio da presente invenção, é possível reduzir a quantidade desses fertilizantes aplicados no solo, enquanto ainda mantendo a mesma quantidade de absorção de fósforo a partir do solo.

[00109] Um adubo orgânico refere-se a uma alteração do solo derivada a partir de fontes naturais que garantem, pelo menos, percentagens mínimas de nitrogênio, de fosfato e/ou potássio. Exemplos não limitantes de fertilizantes orgânicos incluem, sem limitação, subprodutos de plantas e animais, pós de rocha, algas, composições e condicionadores. Estes são muitas vezes disponíveis em centros de jardim e através de empresas de fornecimento hortícola. Em particular, a fonte orgânica de fósforo é a partir de farinha de ossos, farinha de carne, esterco animal, composto, lodo de esgoto, ou guano, ou combinações destes.

Compostos quitinosos

[00110] Conforme utilizado neste documento, compostos quitinosos significam quitinas e quitosanas, que são os componentes principais das paredes celulares de fungos e exoesqueletos de insetos e crustáceos e também são compostos por resíduos de GlcNAc. Em um aspecto, um

composto quitinoso pode ser utilizado em combinação com, ou como parte de, um inoculante da presente invenção ou uma parte de um método da presente invenção.

[00111] Os compostos quitinosos incluem, sem limitação, quitina, (IUPAC: N-[5-[[3-acetilamino-4,5-di-hidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2il]metoximetil]-2-[[5-acetilamino-4,6-di-hidroxi-2-(hidroximetil)oxan-3-il]metoximetil]-4-hidroxi-6-(hidroximetil)oxan-3-is]etanamida) e quitosana, (IUPAC: 5-amino-6-[5-amino-6-[5-amino-4,6-di-hidroxi-2(hidroximetil)oxan-3-il]oxi-4-hidroxi-2-(hidroximetil)oxan-3-il]oxi-2(hidroximetil)oxano-3,4-diol). Estes compostos podem ser obtidos comercialmente, por exemplo, pela Sigma-Aldrich ou preparado a partir de insetos, cascas de crustáceos ou paredes celulares de fungos. Os métodos para a preparação de quitina e quitosana são conhecidos na arte e foram descritos, por exemplo, na Patente US 4,536,207 (preparação a partir de cascas de crustáceos), Pochanavanich, *et al. Lett. Appl. Microbiol.* 35: 17-21 (2002) (preparação a partir de paredes celulares fúngicas), e Patente US 5.965.545 (preparação a partir de cascas de caranguejo e hidrólise de quitosana comercial). Quitosanas e quitinas desacetiladas podem ser obtidas que variam a partir de menos de 35% a mais de 90% de desacetilação e cobrem um amplo espectro de pesos moleculares, por exemplo, oligômeros de quitosana de baixo peso molecular de menos de 15kD e oligômeros de quitina de 0,5 a 2kD; quitosana de “grau prático” com um peso molecular de cerca de 15kD; e quitosana de peso molecular alto de até 70kD. Composições de quitina e quitosana formuladas para o tratamento de sementes também são comercialmente disponíveis. Os produtos comerciais incluem, sem limitação, por exemplo, ELEXA[®] (Plant Defense Boosters, Inc.) e BEYOND[™] (Agrihouse, Inc.). Os compostos quitinosos podem ser utilizados em um aspecto da presente invenção.

Flavonoides/Ácido Jasmônico/Ácido Linolênico

[00112] Em um aspecto, um flavonoide, um ácido jasmônico ou ácido linolênico pode ser utilizado em combinação com, ou como parte de, um inoculante da presente invenção ou parte de um método da presente invenção. Os flavonoides são compostos fenólicos que têm a estrutura geral de dois anéis aromáticos ligados por uma ponte com três carbonos.

[00113] Classes de flavonoides incluem, sem limitação, chalconas, antocianidinas, cumarinas, flavonas, flavonoides, flavonóis, flavanonas e isoflavonas. Vide , Jain, *et al.*, *J. Plant Biochem. & Biotechnol.* 77:1 - 10 (2002); Shaw, *et al.*, *Environmental Microbiol.* 77: 1867-80 (2006).

[00114] Conforme utilizado neste documento, o termo “isoflavonoides” significa fitoestrogênios, isoflavonas (por exemplo, genisteína, daidzeína, gliciteína etc.) e isoflavanos (por exemplo, equol, lonchocarpane, laxiflorane etc.). Os isoflavonoides podem ser utilizados em um aspecto da presente invenção. Em um aspecto, os isoflavonoides podem ser utilizados em combinação com, ou como parte de, um inoculante da presente invenção ou uma parte de um método da presente invenção.

[00115] Os flavonoides representativos que podem ser úteis na prática da presente invenção incluem, sem limitação, genisteína, daidzeína, formononetina, naringenina, hesperetina, luteolina e apigenina. Ácido jasmônico (JA, [1R-[1 a,2 [Z]]]-3-oxo-2-(pentenil)ácido ciclopentanoacético) e seus derivados, ácido linoleico ((Z,Z)-9,12-ácido octadecadienoico) e seus derivados e ácido linolênico ((Z,Z,Z)-9,12,15-ácido octadecatrienoico) e seus derivados podem ser utilizados na prática da presente invenção. O ácido jasmônico e seu éster de metil, o metil jasmonato (MeJA), conhecidos coletivamente como jasmonatos, são compostos baseados em octadecanoides que ocorrem naturalmente em plantas. O ácido jasmônico pode ser produzido pelas raízes de mudas de trigo e por micro-organismos fúngicos tais como

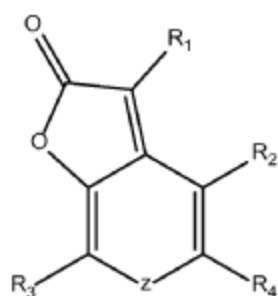
Botryodiplodia theobromae e *Gibber fujikuroi*, levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) e cepas patogênicas e não patogênicas de *Escherichia coli*. Jasmonatos, ácido linoleico e ácido linolênico (e seus derivados) são relatados como indutores da expressão do gene nod ou da produção de LCO por rizobactérias. Vide Vide por exemplo, Mabood, Fazli, “Jasmonates induce the expression of nod genes in *Bradyrhizobium japonicum*”, 17 de maio de 2001; e Mabood, Fazli, “Linoleic and linolenic acid induce the expression of nod genes in *Bradyrhizobium japonicum*”, USDA 3, 17 de maio de 2001.

[00116] Derivados úteis de ácido linoleico, ácido linolênico e ácido jasmônico que podem ser úteis na prática dos métodos descritos neste documento incluem, sem limitação, ésteres, amidas, glicosídeos e sais. Ésteres representativos são compostos nos quais o grupo carboxila do ácido linoleico, ácido linolênico ou ácido jasmônico foi substituído por um grupo -COR, no qual R é um grupo -OR¹, no qual R¹ é: um grupo alquila, tal como um grupo alquila não ramificado ou ramificado C₁-C₈, por exemplo, um grupo metila, etila ou propila; um grupo alcenila, tal como um grupo alcenila não ramificado ou ramificado C₂-C₈; um grupo alcinila, tal como um grupo alcinila não ramificado ou ramificado C₂-C₈; um grupo arila tendo, por exemplo, 6 a 10 átomos de carbono; ou um grupo heteroarila possuindo, por exemplo, 4 a 9 átomos de carbono, em que os heteroátomos no grupo heteroarila podem ser, por exemplo, N, O, P ou S. Amidas representativas são compostos nos quais o grupo carboxila do ácido linoleico, ácido linolênico ou ácido jasmônico foi substituído com grupo -COR, no qual R é um grupo NR²R³, no qual R² e R³ são, independente, hidrogênio; um grupo alquila, tal como um grupo alquila não ramificado ou ramificado C₁- C₈, por exemplo, um grupo propila, metila ou etila; um grupo alceno, tal como um grupo alcinila ramificado ou não ramificado C₂- C₈; um grupo alcinila, tais como um C₂- C₈ grupo alcinila ramificado ou não ramificado; um grupo arila,

com, por exemplo, 6 a 10 átomos de carbono; ou um grupo de heteroarila, com, por exemplo, 4 a 9 átomos de carbono, em que os heteroátomos no grupo heteroarila podem ser, por exemplo, N, O, P ou S. Ésteres podem ser preparados por métodos conhecidos, tais como adição nucleofílica catalisada por ácido, em que o ácido carboxílico é reagido com um álcool na presença de uma quantidade catalítica de um ácido mineral. As amidas também são preparadas por métodos conhecidos, tais como por reação do ácido carboxílico com a amina apropriada na presença de um agente de acoplamento, tal como diciclohexilcarbodiimida (DCC), sob condições neutras. Os sais adequados do ácido linoleico, ácido linolênico, e ácido jasmônico incluem, sem limitação, por exemplo, sais de adição de base. As bases que podem ser utilizadas como reagentes para preparar sais de base metabolicamente aceitáveis destes compostos incluem aqueles derivados a partir de cátions tais como cátions de metais alcalinos (por exemplo, potássio e sódio) e cátions de metais alcalino-terrosos (por exemplo, cálcio e magnésio). Estes sais podem ser facilmente preparados pela mistura de uma solução de ácido linoleico, ácido linolênico, ácido jasmônico ou com uma solução da base. O sal pode ser precipitado da solução e ser recolhido por filtração ou pode ser recuperado por outros meios tais como por evaporação do solvente.

Karrikinas

[00117] Karrikinas são vinílogos 4H-pironas como, por exemplo, 2H-furo[2,3-c]piran-2-onas. Em um aspecto, Karrikinas podem ser utilizados em combinação com, ou como parte de, um inoculante da presente invenção ou uma parte de um método da presente invenção. Em um aspecto, Karrikinas incluem, sem limitação, derivados e análogos destes. Exemplos desses compostos são representados pela seguinte estrutura:



na qual; Z é O, S ou NR₅; R₁, R₂, R₃ e R₄ são cada um independentemente H, alquila, alcenila, alcinila, fenila, benzila, hidroxila, hidroxialquila, alcoxi, feniloxi, benziloxi, CN, COR₆, COOR=, halogêneo, NR₆R₇ ou NO₂; e R₅, R₆ e R₇ são cada um independentemente H, alquila ou alcenila ou um sal biologicamente aceitável destes. Exemplos de sais biologicamente aceitáveis destes compostos podem incluir, sem limitação, sais de adição de ácido formados com ácidos biologicamente aceitáveis, exemplos dos quais incluem, sem limitação, cloridrato, bromidrato, sulfato ou bissulfato, fosfato ou fosfato de hidrogênio, acetato, benzoato, succinato, fumarato, maleato, lactato, citrato, tartarato, gluconato; metanossulfonato, benzenossulfonato e ácido p-toluenossulfônico. Sais metálicos biologicamente aceitáveis adicionais podem incluir, sem limitação, sais de metais alcalinos, com bases, exemplos dos quais incluem os sais de sódio e potássio. Exemplos de compostos abrangidos pela estrutura e que podem ser adequados para utilização na presente invenção incluem, sem limitação, os seguintes: 3-Metil-2H-furo[2,3-c]pirano-2-ona (no qual R₁ = CH₃, R₂, R₃, R₄ = H), 2H-furo[2,3-c]pirano-2-ona (no qual R₁, R₂, R₃, R₄ = H), 7-metil-2H-furo[2,3-c]pirano-2-ona (no qual R₁, R₂, R₄ = H, R₃ = CH₃), 5-metil-2H-furo [2,3-c] pirano-2-ona (no qual R₁, R₂, R₃ = H, R₄ = CH₃), 3,7-dimetil-2 H-furo[2,3-c]pirano-2-ona (no qual R₁, R₃ = CH₃, R₂, R₄ = H), um 3,5-dimetil-2H-furo[2,3-c]pirano-2-ona (no qual R₁, R₄ = CH₃, R₂, R₃ = H), 3,5,7- trinnetil-2H-furo[2,3-c]pirano-2-ona (no qual R₁, R₃, R₄ = CH₃, R₂ = H), 5-metoxinnetil-3-nnetil-2H-furo[2,3-c]pirano-2-ona (no qual R₁ = CH₃, R₂, R₃ = H, R₄ = CH₂OCH₃), 4-bromo-3,7-dimetil-2H-furo[2,3-

c]pirano-2-ona (no qual $R_1, R_3 = \text{CH}_3, R_2 = \text{Br}, R_4 = \text{H}$), 3-metilfuro [2,3-c]piridina-2(3H)-1 (no qual $Z = \text{NH}, R_1 = \text{CH}_3, R_2, R_3, R_4 = \text{H}$), 3,6-dimetilfuro[2,3-c]piridina-2(6H)-1 (no qual $Z = \text{N-CH}_3, R_1 = \text{CH}_3, R_2, R_3, R_4 = \text{H}$). *Vide* Patente US 7.576.213. Essas moléculas também são conhecidas como Karrikinas. *Vide* Halford, *supra*. Karrikinas podem ser utilizadas em um aspecto da presente invenção.

Métodos

[00118] Em um aspecto, a presente descrição fornece o cultivo de uma planta de milho inoculada ou semente de milho no solo após uma ou mais plantações consecutivas de milho no solo onde o inoculante é capaz de reduzir a penalidade de produção de milho sobre milho.

[00119] Em um aspecto, o solo é presente em um campo. Um campo pode ser qualquer campo. Em um aspecto, uma área de terra, fechada ou não, é utilizada para fins agrícolas, como o cultivo de culturas. Em um aspecto, um campo ou área de terra/solo para o cultivo de milho é maior que 100 metros quadrados, 500 metros quadrados, 1 hectare, 5 acres, 10 acres, 20 acres ou 50 acres.

[00120] Em um aspecto, um plantio consecutivo de milho é qualquer plantio contínuo de milho no qual um primeiro plantio de milho em uma safra anterior é seguido de um segundo plantio de milho em uma safra posterior e não interrompido por um plantio de não milho. Em um aspecto, um não milho pode ser uma planta fixadora de nitrogênio, a planta fixadora de nitrogênio pode ou não ser uma planta leguminosa, e a planta leguminosa pode ou não ser uma planta de soja. Adicionalmente, o não milho pode ser uma planta de fixação não nitrogenada, incluindo, mas não limitado a, trigo e algodão.

[00121] Em um aspecto, o(s) plantio(s) consecutivo(s) de milho pode(m) ser de 2, 3, 4, 5 ou 6 ou mais plantios de milho consecutivos sem uma rotação intermediária de não milho.

[00122] Em um aspecto, um plantio pode ser um plantio consecutivo

sem plantio de fixação de nitrogênio.

[00123] Em um aspecto, o plantio consecutivo de plantas não fixadoras de nitrogênio é qualquer plantio contínuo de plantas não fixadoras de nitrogênio, no qual o primeiro plantio de plantas não fixadas com nitrogênio em uma safra mais precoce é seguido de um segundo plantio não fixador de nitrogênio em uma safra posterior e não interrompido por um plantio de plantas fixadoras de nitrogênio.

[00124] Conforme utilizado neste documento, o termo “milho sobre milho” significa plantações de milho em duas ou mais safras consecutivas nos mesmos campos e não alternadas com uma cultura que não seja de milho.

[00125] Em um aspecto, um método ou inoculante resulta na redução de uma penalidade de produção de milho sobre milho. Conforme utilizado neste documento, o termo "penalização de rendimento de milho sobre milho" (CCYP, corn-on-corn yield penalty) é definido a seguir:

$$CCYP = Y_{NC} - Y_{CC}$$

no qual, Y_{NC} é o rendimento de milho em uma safra posterior após um plantio imediato de uma planta não milho (NC, non-corn) em uma safra anterior, na qual a planta não milho pode ser uma planta fixadora de nitrogênio, a planta fixadora de nitrogênio pode ou pode não ser uma planta leguminosa e a planta leguminosa pode ou não ser uma planta de soja. Adicionalmente, o não milho pode ser uma planta de não fixação de nitrogênio, incluindo, mas não limitado a, trigo e algodão; e Y_{CC} é o rendimento do milho em uma safra posterior após um plantio anterior imediato de milho em uma safra anterior. Em um aspecto, o CCYP é medido conforme estabelecido no Exemplo 2.

[00126] Em um aspecto, a redução de uma penalidade de produção de milho sobre milho é maior que 3%, 5%, 10%, 15% ou 20% de uma semente ou planta de milho não tratada. Em um aspecto, a penalidade

de produção de milho sobre milho é medida em uma única planta. Em outros aspectos, a penalidade de produção de milho sobre milho é medida em um grupo de plantas no qual o grupo de plantas é maior que 100, 200, 500 ou 1000 plantas de milho. Em um aspecto, a redução de CCYP é uma capacidade de um inoculante ou método fornecido.

[00127] Em um aspecto, o inoculante é aplicado às sementes de milho antes do plantio. EM um aspecto, a aplicação é de pelo menos 0,25, 0,5, 0,75, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, 36 meses ou mais antes do plantio. Em um aspecto, o milho foi semeado no solo durante, pelo menos, duas ou mais safras consecutivas. Em um aspecto, pelo menos as duas ou mais safras anteriores são as três, quatro, cinco, seis, sete, oito, nove, dez ou mais safras anteriores. EM um aspecto, o método é capaz de reduzir a penalidade na produção de milho sobre milho a partir de plantio de milho consecutivo em pelo menos cerca de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95% ou mais. Em um aspecto, a penalidade de rendimento de milho sobre milho é menor que 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 ou 50 alqueires/acre.

[00128] Em um aspecto, “aplicar” ou “aplicado” pode ser realizado por qualquer pessoa, mas sem limitação, pode ser realizado em sua totalidade por um agricultor, um trabalhador rural, um operário, um distribuidor de sementes, uma empresa agroquímica, uma empresa de tecnologia agrícola ou quaisquer outras partes situadas similarmente.

[00129] Em um aspecto, a presente invenção inclui um método de gestão de rotação de colheitas que fornece duas plantações de milho consecutivas em um campo no qual a plantação posterior fornece um rendimento que é de pelo menos 80%, 82%, 84%, 86%, 88%, 90%, 92%, 94%, 96%, 98%, 100%, 102%, 104%, 106%, 108%, 110%, 115%, 120% ou 125% do rendimento da plantação anterior, o método

compreendendo : a) tratamento de sementes de milho com uma composição compreendendo uma quantidade eficaz de *Penicillium bilaii*; e b) fornecimento das sementes de milho tratadas para um agricultor para crescimento em um campo no qual o milho foi plantado em uma safra imediatamente anterior.

[00130] Em um aspecto, uma quantidade eficaz da composição contendo *Penicillium bilaii* está presente em uma quantidade de cerca de 8 a cerca de 16 onças/acre. Em um aspecto, a quantidade efetiva da composição contendo *Penicillium bilaii* está em uma concentração de pelo menos 8 onças/acre, pelo menos cerca de 9 onças/acre, pelo menos cerca de 10 onças/acre, pelo menos cerca de 11 onças/acre, pelo menos cerca de 12 onças/acre, pelo menos cerca de 13 onças/acre, pelo menos cerca de 14 onças/acre, pelo menos cerca de 15 onças/acre, ou pelo menos cerca de 16 onças/acre. Em um aspecto, a quantidade efetiva da composição contendo *Penicillium bilaii* está em uma concentração a partir de cerca de 8 a cerca de 16 onças/acre, a partir de cerca de 9 a cerca de 16 onças/acre, a partir de cerca de 10 a cerca de 16 onças/acre, a partir de cerca de 11 a cerca de 16 onças/acre, a partir de cerca de 12 a cerca de 16 onças/acre, a partir de cerca de 13 a cerca de 16 onças/acre, a partir de cerca de 14 a cerca de 16 onças/acre ou a partir de cerca de 15 a cerca de 16 onças/acre. Em outro aspecto, o inoculante *Penicillium bilaii* pode variar de cerca de 1×10^6 a cerca de 1×10^8 cfu por quilo de sementes. Em um aspecto, o inoculante *Penicillium bilaii* está presente em uma quantidade de cerca de $1,7 \times 10^7$ cfu por quilo de sementes.

[00131] Em um aspecto, o rendimento de milho cultivado no campo com o inoculante é de pelo menos 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14% ou 15% superior ao rendimento de milho cultivado em um campo comparável após um ou mais plantios de milho consecutivos sem o inoculante.

[00132] Em um aspecto, o rendimento de milho cultivado no campo com o inoculante é de cerca de 0,5% a cerca de 15%, 1% a cerca de 15%, 2% a cerca de 15%, 3% a cerca de 15%, de cerca de 4% a cerca de 15%, de cerca de 5% a cerca de 15%, de cerca de 6% a cerca de 15%, de cerca de 7% a cerca de 15%, de cerca de 8% a cerca de 15%, de cerca de 9% a cerca de 15% de cerca de 10% a cerca de 15%, de cerca de 11% a cerca de 15%, de cerca de 12% a cerca de 15%, de cerca de 13% a cerca de 15% ou de cerca de 14% a cerca de 15% superior ao rendimento de milho cultivado em um campo comparável após um ou mais plantios consecutivos de milho sem o inoculante.

[00133] Em um aspecto, a presente invenção inclui um método compreendendo o fornecimento para uma pessoa de uma população de sementes de milho com necessidade de reduzir uma penalização de rendimento de milho sobre milho e um inoculante compreendendo uma quantidade eficaz de *Penicillium bilaii*, onde a quantidade é eficaz para reduzir a penalização de rendimento de milho sobre milho.

[00134] Conforme utilizado neste documento, o termo “uma pessoa” significa um agricultor, um trabalhador agrícola, um operário ou quaisquer outras partes situadas similarmente. Em um aspecto, um método pode ser realizado por uma pessoa com necessidade deste.

[00135] Em outro aspecto, a presente descrição inclui um método para o crescimento de uma população de plantas de milho, compreendendo a seleção de um campo no qual o milho foi cultivado durante uma estação de crescimento que precede imediatamente a seleção do campo, plantando sementes de milho que necessitam reduzir a penalização de produção de milho sobre milho que foi tratada com quantidade eficaz de *Penicillium bilaii* no campo selecionado, no qual a quantidade é eficaz para reduzir a penalização de produção de milho sobre milho.

[00136] Conforme utilizado neste documento, o termo “safra(s)” significa um período de tempo em um dado ano quando o clima é ideal

para colheitas desfrutarem do maior crescimento.

[00137] Conforme utilizado neste documento, os termos “primeiro”, “segundo”, “anterior”, “precedente”, “anterior”, “posterior” ou “subsequente” referem-se a uma relação temporal entre dois plantios de uma população de plantas imediatamente após um outro em duas safras consecutivas sem ser interrompido por um terceiro plantio de uma população de plantas.

[00138] Um aspecto da presente invenção fornece um método para impedir uma penalização de produção de milho sobre milho em uma população de plantas de milho com a necessidade citada compreendendo: a) aplicação de uma composição compreendendo uma quantidade eficaz de *Penicillium bilaii* em sementes de milho e/ou em um campo no qual o milho foi cultivado durante uma estação de crescimento que precede imediatamente o plantio; e b) plantio das sementes de milho no campo sem cultivar uma população de plantas que não sejam de milho no campo antes do plantio das sementes de milho, no qual a quantidade é eficaz para evitar a penalização de produção do milho sobre o milho.

[00139] Em um aspecto, o campo no qual o milho foi cultivado durante uma safra que precede imediatamente o plantio das sementes de milho não aumentou a população de plantas não milho em nenhuma das duas safras que imediatamente precederam o plantio das sementes de milho. Em outro aspecto, a população de plantas não milho é plantada em pelo menos 10.000 plantas/acre. Em um aspecto, o campo no qual o milho foi cultivado durante uma safra que precede imediatamente o plantio das sementes de milho não foi de pousio em nenhuma das duas ou mais safras que imediatamente precederam o plantio das sementes de milho. Em um aspecto, a população de plantas não milho são plantas fixadoras de nitrogênio. Em um aspecto, as plantas fixadoras de nitrogênio são leguminosas. Em um aspecto, as plantas

leguminosas são plantas de soja. Em um aspecto, a população de plantas não milho são plantas não fixadoras de nitrogênio. Em um aspecto, as plantas não fixadoras de nitrogênio são selecionadas a partir do grupo que consiste em trigo e algodão. Em um aspecto, o rendimento da população de plantas de milho é igual ou maior que o rendimento de milho de um campo comparável sem o inoculante. Em um aspecto adicional, o rendimento da população de plantas de milho é igual ou maior ao rendimento de milho de um campo comparável sem o inoculante.

[00140] Conforme utilizado neste documento, o termo “campo comparável” significa um campo em uma localização aproximada do campo aplicado com o inoculante, cultivado em condições de solo e clima essencialmente semelhantes aos do campo aplicado com o inoculante e plantado com sementes de milho semelhantes sob a mesma gestão (isto é, plantas de milho foram cultivadas na safra anterior) e mesmos tratamentos do campo aplicado com o inoculante.

[00141] Um aspecto adicional da presente invenção inclui um método para melhorar a produção de milho em um campo cultivado em uma rotação de milho sobre milho por duas ou mais safras consecutivas, compreendendo: a) o crescimento de uma primeira população de plantas de milho no campo durante uma primeira estação de crescimento;; e b) cultivo de uma segunda população de plantas de milho no campo durante uma segunda estação de crescimento; na qual a segunda população de plantas de milho é tratada com uma composição compreendendo um *Penicillium bilaii* antes do plantio, no momento da plantação e/ou após o plantio e no qual a primeira e segunda safras são estações de crescimento consecutivas.

[00142] Em um aspecto, o inoculante é aplicado as sementes de milho da segunda população de plantas de milho antes da plantação. Em outro aspecto, o inoculante é aplicado ao solo antes do plantio. Em

um aspecto, o inoculante é aplicada às sementes da segunda população de plantas de milho no plantio. Em um aspecto, o inoculante é aplicado ao solo após o plantio. Em um aspecto, o inoculante é aplicado à folhagem da segunda população de plantas de milho. Em um aspecto, a população de plantas não milho são plantas fixadoras de nitrogênio. Em um aspecto, o campo não estava em pousio nas duas ou mais safras consecutivas de milho. Em um aspecto, o rendimento da segunda população de plantas de milho é igual ou maior que o rendimento da primeira população de plantas de milho.

[00143] Conforme utilizado neste documento, os termos “rotação de culturas” e “rotação” significam o plantio de uma ou mais culturas diferentes no mesmo campo em safras consecutivas, em contraste a um sistema de monocultura ou para sucessões de culturas aleatórias.

[00144] Em um aspecto, as plantas não milho são plantas fixadoras de nitrogênio. Em um aspecto, as plantas fixadoras de nitrogênio são leguminosas. Em um aspecto, as plantas leguminosas são plantas de soja. Em um aspecto, as plantas não milho são plantas não fixadoras de nitrogênio. Em um aspecto, as plantas não fixadoras de nitrogênio são selecionadas a partir do grupo que consiste em trigo e algodão.

[00145] Em um aspecto, o método compreende ainda o cultivo de uma terceira cultura de milho no campo em uma terceira safra subsequente na qual o rendimento da terceira população de plantas de milho é pelo menos igual à primeira ou segunda população de plantas de milho.

[00146] Em outro aspecto, a descrição inclui um método para reduzir uma penalização da produção de milho sobre milho em um campo cultivado em uma rotação de milho sobre milho por duas ou mais safras consecutivas, compreendendo: a) cultivo de uma primeira população de plantas de milho no campo durante uma primeira safra; e b) cultivo de uma segunda população de plantas de milho no campo durante uma

segunda safra; a segunda população de plantas de milho sendo tratada com um inoculante compreendendo um *Penicillium bilaii* antes do plantio, no momento do plantio e/ou após o plantio e no qual a primeira e a segunda safras são safras de crescimento consecutivas.

[00147] Em um aspecto adicional, a presente invenção inclui um método de gestão de rotação de colheitas que fornece duas plantações de milho consecutivas em um campo no qual a plantação posterior fornece um rendimento que é de pelo menos 80%, 82%, 84%, 86%, 88%, 90%, 92%, 94%, 96%, 98%, 100%, 102%, 104%, 106%, 108%, 110%, 115%, 120% ou 125% do rendimento da plantação anterior, o método compreendendo : a) tratamento de sementes de milho com uma composição compreendendo uma quantidade eficaz de *Penicillium bilaii*; e b) fornecimento das sementes de milho tratadas para um agricultor para crescimento em um campo no qual o milho foi plantado em uma safra imediatamente anterior.

[00148] O tratamento pode ser realizado em sua totalidade por qualquer entidade adequada incluindo, sem limitação, um agricultor, um trabalhador agrícola, um operário, um distribuidor de sementes, uma empresa agroquímica, uma empresa de tecnologia agrícola ou quaisquer outras partes situadas similarmente.

[00149] Em um aspecto, o campo não foi intercalado em nenhuma das duas, três, quatro ou cinco safras consecutivas. Em um aspecto, uma população de plantas de fixação de nitrogênio não foram cultivadas em qualquer uma das duas, três, quatro ou cinco safras consecutivas anteriores. Em um aspecto, as plantas fixadoras de nitrogênio são leguminosas. Em um aspecto, as plantas leguminosas são plantas de soja.

[00150] A presente invenção inclui ainda um método de redução de penalização da produção de milho sobre milho, o método compreendendo: a) plantio de sementes de milho em necessidade do mesmo,

tratadas com um inoculante compreendendo *Penicillium bilaii* em um campo em que o milho foi cultivado durante uma safra de crescimento que precede imediatamente o plantio das sementes de milho em necessidade do mesmo; b) cultivo de milho a partir das sementes de milho que dele necessitam; e c) produção de um rendimento de milho onde a penalização de produção de milho sobre milho é reduzida como resultado do inoculante compreendendo *Penicillium bilaii*.

[00151] Em um aspecto, o rendimento de milho a partir das sementes de milho em necessidade do mesmo é maior que o rendimento de milho obtido a partir do campo de milho na safra anterior que imediatamente precede o plantio das sementes de milho em necessidade do mesmo.

[00152] Em outro aspecto, a presente invenção inclui um método para redução da penalidade de produção de milho sobre milho, o método compreendendo: a) administração, a uma população de plantas de milho, de sementes de milho e/ou solo contendo uma população de plantas de milho ou sementes de milho em necessidade dos mesmos, um inoculante compreendendo uma quantidade eficaz de um *Penicillium bilaii*; e b) cultivo da população de plantas de milho ou sementes de milho em necessidade do solo; no qual o milho foi cultivado no solo durante uma safra de crescimento que precede imediatamente a safra de milho ou sementes de milho.

[00153] Conforme utilizado neste documento, o termo "administrar" pode ser executado na sua totalidade por um agricultor, um trabalhador agrícola, um operário, um distribuidor de sementes, uma empresa agroquímica, uma empresa de tecnologia agrícola ou quaisquer outras partes situadas similarmente.

[00154] Ainda em outro aspecto, a presente invenção inclui ainda um método compreendendo: a) plantio de sementes de milho no solo no qual o milho foi cultivado durante uma safra de crescimento que precede imediatamente o plantio das sementes de milho e b) aplicação de um

inoculante compreendendo *Penicillium bilaii* ao solo, as sementes de milho e/ou plantas que germinam a partir das sementes de milho, onde o inoculante é capaz de aumentar o rendimento das plantas.

[00155] Em um aspecto, nenhuma semente de uma planta não milho foi semeada no solo durante qualquer uma das 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais safras anteriores. Em um aspecto, o método compreende, adicionalmente, aplicar uma ou mais composições selecionadas a partir do grupo que consiste em um ou mais elementos agronomicamente benéficos ao solo, um ou mais elementos agronomicamente benéficos à semente, um ou mais elementos agronomicamente benéficos à planta que germina a partir da semente, um ou mais lipo-quito-oligossacarídeo, um ou mais quito-oligossacarídeo, um ou mais compostos quitinosos, um ou mais isoflavonoides, ácido jasmônicos ou derivados deste, ácido linolênico ou derivados deste, ácido linoleico ou derivados deste, um ou mais Karrakinas, um ou mais pesticidas, um ou mais fertilizantes e qualquer combinação dos inoculantes acima.

[00156] A presente invenção inclui ainda um método para maximizar a receita da agricultura de um campo, o método compreendendo: a) determinação uma primeira receita líquida projetada a partir de plantações de milho consecutivas por menos duas safras no campo; b) determinação de uma segunda receita líquida projetada a partir de uma rotação de milho sobre não milho no campo para o mesmo número de safras; c) determinação de uma terceira receita líquida projetada a partir de plantações consecutivas de milho por pelo menos duas safras no campo, no qual a terceira receita líquida projetada pressupõe que o milho e/ou o campo será tratado com um inoculante capaz de reduzir uma penalidade de rendimento de milho sobre milho no campo; d) comparação da primeira, segunda e terceira receitas líquidas projetadas; e) recomendação de plantações de milho consecutivas; e f) fornecimento de sementes de milho que foram tratadas com um inoculante que

compreende uma quantidade eficaz de *Penicillium bilaii*.

[00157] A presente invenção também inclui um método que compreende a) fornecimento a um agricultor em necessidade de instruções para reduzir uma penalização de produção de milho sobre milho pela aplicação uma quantidade eficaz de um inoculante compreendendo *Penicillium bilaii* a uma semente de milho ou a plantas que crescem da semente de milho; e b) fornecimento de inoculante ao agricultor.

[00158] Embora a descrição deste documento tenha sido descrita com referência a modalidades específicas, deve-se compreender que estes aspectos são meramente ilustrativos dos princípios e aplicações da presente invenção. Deve-se entender, portanto, que diversas modificações podem ser feitas aos aspectos ilustrativos e que outras disposições podem ser concebidas sem se afastar do espírito e escopo da presente invenção, conforme definido pelas reivindicações anexas.

[00159] Os exemplos seguintes ilustram modalidades da presente invenção.

[00160] Modalidade 1. Um método compreendendo:

a. aplicação de um inoculante compreendendo *Penicillium bilaii* para uma população de plantas de milho ou sementes de milho que necessitam reduzir a penalidade de produção de milho sobre milho; e

b. cultivo ou plantio da referida população de plantas de milho ou sementes de milho com necessidade dos mesmos em um campo no qual milho foi cultivado durante uma safra que precede imediatamente o plantio da referida população de milho ou sementes de milho com necessidade, em que o referido inoculante é capaz de reduzir a referida penalidade de rendimento de milho sobre milho.

[00161] Modalidade 2. O método da Modalidade 1, em que o referido *Penicillium bilaii* é pelo menos 75% idêntico a uma cepa depositada com base na identidade de sequência de rDNA 16S, em que a

referida cepa depositada é selecionada a partir do grupo constituído por ATCC 20851, NRRL 50169, ATCC 22348, ATCC 18309, NRRL 50162, NRRL 50776, NRRL 50777, NRRL 50778, NRRL 50779, NRRL 50780, NRRL 50781, NRRL 50782, NRRL 50783, NRRL 50784, NRRL 50785, NRRL 50786, NRRL 50787, NRRL 50788, RS7B-SD1 e suas combinações.

[00162] Modalidade 3. O método das Modalidades 1 ou 2, em que as referidas cepas de *Penicillium bilaii* são NRRL 50169 e NRRL 50162.

[00163] Modalidade 4. O método de qualquer uma das Modalidades 1 a 3, em que uma fonte de fósforo é adicionada ao solo do referido campo.

[00164] Modalidade 5. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 4, em que a referida fonte é fosfato de rocha.

[00165] Modalidade 6. O método de qualquer uma das Modalidades 1 a 5, em que a referida fonte é um fertilizante fabricado.

[00166] Modalidade 7. O método de qualquer uma das Modalidades de 1 a 6, onde o referido fertilizante fabricado é selecionado do grupo constituído por fosfato monocálcico fosfato super triplo, fosfato diamônico, superfosfato simples e polifosfato de amônio.

[00167] Modalidade 8. O método de qualquer uma das Modalidades 1 a 4, em que a referida fonte de fósforo é orgânica.

[00168] Modalidade 9. O método da Modalidade 8, em que a referida fonte orgânica de fósforo compreende farinha de osso, farinha de carne, estrume animal, composto, lodo de esgoto, guano e suas misturas.

[00169] Modalidade 10. O método de qualquer uma das Modalidades 1 a 9, em que o referido inoculante compreende ainda um fungo de *Penicillium* selecionado do grupo que consiste de *P. albidum*, *P. aurantiogriseum*, *P. chrysogenum*, *P. citreonigrum*, *P. citrinum*, *P.*

digitatum, *P. frequentas*, *P. fuscum*, *P. gaestrivorus*, *P. glabrum*, *P. griseofulvum*, *P. implicatum*, *P. janthinellum*, *P. lilacinum*, *P. minioluteum*, *P. montanense*, *P. nigricans*, *P. oxalicum*, *P. pinetorum*, *P. pinophilum*, *P. purpurogenum*, *P. radicans*, *P. radicum*, *P. raistrickii*, *P. rugulosum*, *P. simplicissimum*, *P. solitum*, *P. variabile*, *P. velutinum*, *P. viridicatum*, *P. glaucum*, *P. fussiporus* e *P. expansum*.

[00170] Modalidade 11. O método de qualquer uma das Modalidades 1 a 10, em que o referido inoculante compreende ainda um transportador agronomicamente aceitável.

[00171] Modalidade 12. O método de qualquer uma das Modalidades 1 a 11, em que o referido inoculante está presente em uma quantidade de 10^6 a 10^{11} unidades formadoras de colônias por hectare.

[00172] Modalidade 13. O método de qualquer uma das Modalidades 1 a 12, em que o referido inoculante está presente em uma quantidade de 10^{-9} µg/semente a 1 µg/semente.

[00173] Modalidade 14. O método de qualquer uma das Modalidades de 1 a 13, em que o referido inoculante é fornecido em uma quantidade a partir de cerca de 8 a cerca de 16 onças/acre.

[00174] Modalidade 15. O método de qualquer uma das Modalidades 1 a 14, em que o referido inoculante é fornecido em uma quantidade de cerca de 1×10^6 a cerca de 1×10^8 ufc por quilo de sementes de milho.

[00175] Modalidade 16. O método de qualquer uma das Modalidades de 1 a 15, em que um rendimento de milho cultivado no referido campo com o referido inoculante é pelo menos 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14% ou 15% maior a um rendimento de milho cultivado em um campo comparável após um ou mais plantios consecutivos de milho sem o referido inoculante.

[00176] Modalidade 17. O método de qualquer uma das Modalidades de 1 a 16, em que o referido inoculante é selecionado a partir do

grupo consistindo em revestir as referidas sementes de milho com o referido inoculante antes do plantio, aplicação do referido inoculante ao solo do referido campo antes do plantio, aplicação do referido inoculante ao solo do referido campo no plantio, aplicação do referido inoculante ao solo do referido campo após o plantio e aplicação do referido inoculante à folhagem de uma população de plantas de milho que crescem no referido campo.

[00177] Modalidade 18. O método de qualquer uma das Modalidades de 1 a 17, em que a referida aplicação é a aplicação do referido inoculante no sulco.

[00178] Modalidade 19. O método de qualquer uma das Modalidades de 1 a 18, em que a dita aplicação é a aplicação do referido inoculante às referidas sementes de milho como um revestimento de sementes.

[00179] Modalidade 20. O método de qualquer uma das Modalidades 1 a 19, em que a referida aplicação é o revestimento das referidas sementes de milho com um revestimento de sementes compreendendo 10^1 - 10^8 unidades formadoras de colônias do referido *Penicillium bilaii* por semente.

[00180] Modalidade 21. O método da Modalidade 20, em que o referido revestimento de sementes compreende 10^2 - 10^6 unidades formadoras de colônias do referido *Penicillium bilaii* por semente.

[00181] Modalidade 22. O método de qualquer uma das Modalidades 1 a 21, em que a dita população de plantas de milho ou sementes de milho é tratada adicionalmente com um fertilizante.

[00182] Modalidade 23. Um método compreendendo o fornecimento para uma pessoa de uma população de sementes de milho com necessidade de reduzir uma penalização de rendimento de milho sobre milho e um inoculante compreendendo uma quantidade eficaz de *Penicillium bilaii*, no qual a referida quantidade é eficaz para reduzir a

penalização de rendimento de milho sobre milho.

[00183] Modalidade 24. O método da Modalidade 23, em que o referido inoculante é aplicado às referidas sementes de milho antes da referida provisão.

[00184] Modalidade 25. O método das Modalidades 23 ou 24, em que o referido inoculante é aplicado às referidas sementes de milho antes do plantio.

[00185] Modalidade 26. O método de qualquer uma das modalidades de 23 a 25, em que a referida composição é aplicada ao solo no qual a referida população de sementes de milho é cultivada antes do plantio.

[00186] Modalidade 27. O método de qualquer uma das Modalidades 23 a 26, em que a referida composição é aplicada às referidas sementes de milho no plantio.

[00187] Modalidade 28. O método de qualquer uma das Modalidades de 23 a 27, em que o referido inoculante é aplicado ao solo no qual a referida população de sementes de milho é cultivada antes do estágio de desenvolvimento V1.

[00188] Modalidade 29. O método de qualquer uma das Modalidades de 23 a 28, em que o referido inoculante é aplicado à folhagem de plantas de milho que germinam a partir das ditas sementes de milho antes da fase de desenvolvimento V1.

[00189] Modalidade 30. O método de qualquer uma das Modalidades 23 a 29, em que um campo no qual a referida população de sementes de milho é cultivada é superior a 100 metros quadrados.

[00190] Modalidade 31. Um método para o crescimento de uma população de plantas de milho, compreendendo a seleção de um campo no qual o milho foi cultivado durante uma estação de crescimento que precede imediatamente a seleção do campo, plantando sementes de milho que necessitam reduzir a penalização de produção de milho sobre

milho que foi tratada com quantidade eficaz de *Penicillium bilaii* no campo selecionado, no qual a quantidade é eficaz para reduzir a penalização de produção de milho sobre milho.

[00191] Modalidade 32. O método da Modalidade 31, em que o referido inoculante compreende ainda um transportador agronomicamente aceitável.

[00192] Modalidade 33. O método das Modalidades 31 ou 32, em que o referido inoculante compreende ainda um pesticida.

[00193] Modalidade 34. O método de qualquer uma das Modalidades de 31 a 33, em que o referido pesticida é selecionado a partir do grupo consistindo de um inseticida, um fungicida, um nematicida e combinações dos mesmos.

[00194] Modalidade 35. O método de qualquer uma das Modalidades de 31 a 34, em que o referido tratamento com o referido *Penicillium bilaii* é selecionado a partir do grupo que consiste em revestir as referidas sementes de milho antes do plantio, aplicar ao solo do referido campo antes do plantio, aplicar ao solo do referido campo no plantio, aplicar ao solo do referido campo após o plantio e aplicar à folhagem de uma população de plantas de milho que crescem no referido campo.

[00195] Modalidade 36. Um método para prevenir uma penalização de rendimento de milho sobre milho em uma população de plantas de milho que com necessidade do mesmo, o método compreendendo:

a. aplicação de um inoculante contendo uma quantidade efetiva de *Penicillium bilaii* para sementes de milho e/ou a um campo em que o milho foi cultivado durante uma safra que precede imediatamente o plantio; e

b. plantio das referidas sementes de milho no referido campo sem cultivar uma população de plantas não milho no referido campo

antes do plantio das referidas sementes de milho, em que a referida quantidade é eficaz para impedir a referida penalidade de produção de milho sobre milho.

[00196] Modalidade 37. Um método para redução de uma penalização de rendimento de milho sobre milho em uma população de plantas de milho que com necessidade, o método compreendendo:

a. aplicação de um inoculante contendo uma quantidade efetiva de *Penicillium bilaii* para sementes de milho e/ou a um campo em que o milho foi cultivado durante uma safra que precede imediatamente o plantio das referidas sementes de milho; e

b. plantio das referidas sementes de milho no referido campo sem cultivo de uma população de plantas de não milho no referido campo antes do plantio das referidas sementes de milho, em que a referida quantidade é eficaz para reduzir a referida penalização de produção de milho sobre milho.

[00197] Modalidade 38. O método da Modalidade 36, em que o referido campo no qual o milho foi cultivado durante uma safra que precede imediatamente o plantio das referidas sementes de milho não aumentou uma população de plantas não milho em nenhuma das duas safras que imediatamente precederam o plantio das referidas sementes de milho.

[00198] Modalidade 39. O método da Modalidade 37, em que o referido campo no qual o milho foi cultivado durante uma safra que precede imediatamente o plantio das referidas sementes de milho não aumentou uma população de plantas não milho em nenhuma das duas safras que imediatamente precederam o plantio das referidas sementes de milho.

[00199] Modalidade 40. O método das Modalidades 36 ou 38 em que a referida população de plantas não milho é plantada em pelo menos 10.000 plantas

[00200] Modalidade 41. O método de qualquer uma das Modalidades 36, 38 ou 40, em que o campo no qual o milho foi cultivado durante uma safra que precede imediatamente o plantio das referidas sementes de milho não era pousio em qualquer das duas safras que imediatamente precederam o plantio das referidas sementes de milho.

[00201] Modalidade 42. O método das Modalidades 37 ou 39, em que o campo no qual o milho foi cultivado durante uma safra que precede imediatamente o plantio das referidas sementes de milho não era pousio em qualquer das duas safras que imediatamente precederam o plantio das referidas sementes de milho.

[00202] Modalidade 43. O método de qualquer uma das Modalidades 36, 38, 40 ou 41, em que a referida população de plantas não milho são plantas fixadoras de nitrogênio.

[00203] Modalidade 44. O método de qualquer uma das Modalidades 36, 38, 40, 41 ou 43, em que as referidas plantas fixadoras de nitrogênio são plantas leguminosas.

[00204] Modalidade 45. O método de qualquer uma das Modalidades 36, 38, 40, 41, 43 ou 44, em que as referidas plantas leguminosas são plantas de soja.

[00205] Modalidade 46. O método da Modalidade 38, em que a referida população de plantas não milho são plantas não fixadoras de nitrogênio.

[00206] Modalidade 47. O método da Modalidade 46, em que as referidas plantas não fixadoras de nitrogênio são selecionadas do grupo que consiste em trigo e algodão.

[00207] Modalidade 48. O método de qualquer uma das Modalidades 36, 38, 40, 41, 43, 44 ou 45, em que um rendimento da referida população de plantas de milho é igual ou superior a um rendimento de milho de um campo comparável sem o referido inoculante.

[00208] Modalidade 49. O método de qualquer uma das Modalidades 37, 39 ou 42, em que um rendimento da referida população de plantas de milho é igual ou superior a um rendimento de milho de um campo comparável sem o referido inoculante.

[00209] Modalidade 50. Um método para aumento da produção de milho em um campo cultivado em uma rotação de milho sobre milho por duas ou mais safras consecutivas, o método compreendendo:

a. cultivo de uma primeira população de plantas de milho no referido campo durante uma primeira safra; e

b. crescimento de uma segunda população de plantas de milho no referido campo durante uma segunda safra, em que a referida segunda população de plantas de milho é tratada com um inoculante compreendendo *Penicillium bilaii* antes do plantio, no momento do plantio e/ou após o plantio, e em que referidas primeira e segunda safras são safras consecutivas de crescimento.

[00210] Modalidade 51. O método da Modalidade 50, em que o referido inoculante é aplicado nas sementes da referida segunda população de plantas de milho antes do plantio.

[00211] Modalidade 52. O método das Modalidades 50 ou 51, em que o referido inoculante é aplicado ao solo do referido campo antes da plantação.

[00212] Modalidade 53. O método de qualquer uma das Modalidades de 50 a 52, em que o referido inoculante é aplicado nas sementes da referida segunda população de plantas de milho no plantio.

[00213] Modalidade 54. O método de qualquer uma das Modalidades de 50 a 53, em que o referido inoculante é aplicado no solo do referido campo após o plantio.

[00214] Modalidade 55. O método de qualquer uma das Modalidades 50 a 54, em que o referido inoculante é aplicado na folhagem da referida segunda população de plantas de milho.

[00215] Modalidade 56. O método de qualquer uma das Modalidades de 50 a 55, em que um rendimento da referida segunda população de plantas de milho é igual ou maior a um rendimento da referida primeira população de plantas de milho.

[00216] Modalidade 57. Um método para redução de uma penalidade no rendimento de milho sobre milho em um campo cultivado em uma rotação de milho sobre milho por duas ou mais safras consecutivas, o método compreendendo:

a. cultivo de uma primeira população de plantas de milho no referido campo durante uma primeira safra; e

b. crescimento de uma segunda população de plantas de milho no referido campo durante uma segunda safra, a referida segunda população de plantas de milho sendo tratada com um inoculante compreendendo *Penicillium bilaii* antes do plantio, no momento do plantio e/ou após o plantio, e em que referidas primeira e segunda safras são safras consecutivas de crescimento.

[00217] Modalidade 58. O método da Modalidade 57, em que o referido inoculante é aplicado nas sementes da referida segunda população de plantas de milho antes do plantio.

[00218] Modalidade 59. O método das Modalidades 57 ou 58, em que o referido inoculante é aplicado ao solo do referido campo antes da plantação.

[00219] Modalidade 60. O método de qualquer uma das Modalidades de 57 a 59, em que o referido inoculante é aplicado nas sementes da referida segunda população de plantas de milho no plantio.

[00220] Modalidade 61. O método de qualquer uma das Modalidades de 57 a 60, em que o referido inoculante é aplicado no solo do referido campo após o plantio.

[00221] Modalidade 62. O método de qualquer uma das Modalidades 57 a 61, em que o referido inoculante é aplicado na folhagem da

referida segunda população de plantas de milho.

[00222] Modalidade 63. O método de qualquer uma das Modalidades de 57 a 62, em que um rendimento da referida segunda população de plantas de milho é igual ou maior a um rendimento da referida primeira população de plantas de milho.

[00223] Modalidade 64. O método de qualquer uma das Modalidades de 50 a 56, em que o referido campo não estava em pousio nas referidas duas ou mais safras de milho consecutivas.

[00224] Modalidade 65. O método de qualquer uma das Modalidades de 57 a 63, em que o referido campo não estava em pousio nas referidas duas ou mais safras de milho consecutivas.

[00225] Modalidade 66. O método de qualquer uma das Modalidades de 50 a 56 e 64, compreendendo ainda o cultivo de uma terceira população de plantas de milho no referido campo em uma terceira safra subsequente em que o rendimento da referida terceira população de plantas de milho é pelo menos igual ao rendimento da referida primeira ou referida segunda população de plantas de milho.

[00226] Modalidade 67. O método de qualquer uma das Modalidades de 57 a 63 e 65, compreendendo ainda o cultivo de uma terceira população de plantas de milho no referido campo em uma terceira safra subsequente em que o rendimento da referida terceira população de plantas de milho é pelo menos igual ao rendimento da referida primeira ou referida segunda população de plantas de milho.

[00227] Modalidade 68. Um método de gerenciamento de rotação de culturas que prevê dois plantios consecutivos de milho em um campo no qual o plantio posterior fornece um rendimento que é, pelo menos, 80%, 82%, 84%, 86%, 88%, 90%, 92%, 94%, 96%, 98%, 100%, 102%, 104%, 106%, 108%, 110%, 115%, 120% ou 125% do rendimento do plantio anterior, o referido método compreendendo:

a. tratamento de sementes de milho com um inoculante

compreendendo uma quantidade eficaz de *Penicillium bilaii*; e

b. fornecimento das referidas sementes de milho tratadas a um agricultor para cultivo em um campo no qual o milho foi plantado em uma safra imediatamente anterior.

[00228] Modalidade 69. O Método da modalidade 68, em que o referido campo não é interplantado em qualquer uma das duas, três, quatro ou cinco safras consecutivas precedentes.

[00229] Modalidade 70. O método das Modalidade 68 ou 69, em que uma população de plantas fixadoras de nitrogênio não é cultivada em qualquer uma das duas, três, quatro ou cinco safras consecutivas precedentes.

[00230] Modalidade 71. O método de qualquer uma das modalidades de 68 a 70, em que uma população de plantas fixadoras de nitrogênio não é cultivada nas duas safras consecutivas precedentes.

[00231] Modalidade 72. O método de qualquer uma das modalidades de 68 a 71, em que uma população de plantas fixadoras de nitrogênio não é cultivada nas três safras consecutivas precedentes.

[00232] Modalidade 73. O método de qualquer uma das modalidades de 68 a 72, em que uma população de plantas fixadoras de nitrogênio não é cultivada nas quatro safras consecutivas precedentes.

[00233] Modalidade 74. O método de qualquer uma das modalidades de 68 a 73, em que uma população de plantas fixadoras de nitrogênio não é cultivada nas cinco safras consecutivas precedentes.

[00234] Modalidade 75. O método de qualquer uma das modalidades de 68 a 74, em que as referidas plantas fixadoras de nitrogênio são plantas leguminosas.

[00235] Modalidade 76. O método da modalidade 75, em que as referidas plantas leguminosas são plantas de soja.

[00236] Modalidade 77. Um método de redução de uma penalização de rendimento de milho sobre milho, o referido método

compreendendo:

a. plantio de sementes de milho em necessidade do mesmo que foram tratadas com um inoculante compreendendo *Penicillium bilaii* em um campo em que o milho foi cultivado durante uma estação de crescimento que precede imediatamente o plantio das referidas sementes de milho em necessidade do mesmo;

b. cultivo do milho a partir das sementes de milho em necessidade do mesmo; e

c. produção de um rendimento de milho em que a referida penalização de rendimento de milho sobre milho é reduzida como resultado do referido inoculante compreendendo *Penicillium bilaii*.

[00237] Modalidade 78. O método da Modalidade 77, em que um rendimento de milho a partir das referidas sementes de milho com necessidade do mesmo é maior que rendimento de milho obtido a partir do referido campo na safra anterior que precede imediatamente o plantio das referidas sementes de milho em necessidade do mesmo.

[00238] Modalidade 79. Um método para redução da penalização de rendimento de milho sobre milho, o referido método compreendendo:

a. administração, a uma população de plantas de milho, de sementes de milho e/ou solo contendo uma população de plantas de milho ou sementes de milho em necessidade dos mesmo, de um inoculante compreendendo uma quantidade eficaz de *Penicillium bilaii*; e

b. cultivo da referida população de plantas de milho ou sementes de milho necessidade do mesmo no referido solo; em que o milho foi cultivado no referido solo durante uma safra que imediatamente precede o crescimento da referida população de plantas de milho ou sementes de milho.

[00239] Modalidade 80. Um método compreendendo:

a. plantio de sementes de milho no solo no qual o milho foi

cultivado durante uma safra que precede imediatamente o plantio das referidas sementes de milho; e

b. aplicação de um inoculante compreendendo *Penicillium bilaii* ao referido solo, às referidas sementes de milho e/ou às plantas que germinam das referidas sementes de milho, em que o referido inoculante é capaz de aumentar o rendimento das referidas plantas.

[00240] Modalidade 81. O método da Modalidade 80, em que o referido inoculante é aplicado às referidas sementes de milho antes do plantio.

[00241] Modalidade 82. O método da Modalidades 80 ou 81, em que a referida aplicação de é pelo menos 0,25, 0,5, 0,75, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, 36 meses ou mais antes do plantio.

[00242] Modalidade 83. O método de qualquer uma das Modalidades de 80 a 82, em que o referido inoculante é aplicado ao referido solo antes do plantio.

[00243] Modalidade 84. O método de qualquer uma das Modalidades de 80 a 83, em que o referido inoculante é aplicado ao referido solo no plantio.

[00244] Modalidade 85. O método de qualquer uma das Modalidades de 80 a 84, em que o referido inoculante é aplicado ao referido solo após o plantio.

[00245] Modalidade 86. O método de qualquer uma das Modalidades 80 a 85, em que o referido inoculante é aplicado na folhagem das referidas plantas que germinam a partir das referidas sementes de milho.

[00246] Modalidade 87. O método de qualquer uma das Modalidades 80 a 86, em que o milho foi semeado no referido solo durante, pelo menos, as duas ou mais safras consecutivas.

[00247] Modalidade 88. O método da Modalidade 87, em que as

referidas pelo menos duas ou mais safras anteriores são as três, quatro, cinco, seis, sete, oito, nove, dez ou mais safras precedentes.

[00248] Modalidade 89. O método da Modalidade 87 ou 88, em que o referido método é capaz de reduzir a penalização de produção de milho sobre milho a partir do plantio consecutivo de milho em pelo menos cerca de 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95% ou mais.

[00249] Modalidade 90. O método de qualquer uma das Modalidades de 80 a 87, em que uma penalização de rendimento de milho sobre milho é menor que 20, 21, 22, 23, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45 ou 50 alqueires/acre.

[00250] Modalidade 91. O método de qualquer uma das Modalidades de 80 a 90, em que uma ou mais características de crescimento de plantas, tais como altura da planta, peso da planta, número de espigas, peso da espiga, número de esporos, peso da semente e data de maturidade, são melhoradas em pelo menos 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300% ou mais.

[00251] Modalidade 92. O método da Modalidade 80, em que o referido rendimento das sementes de milho é melhorado em pelo menos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300% ou mais em relação ao rendimento de milho da referida safra anterior.

[00252] Modalidade 93. O método de qualquer uma das Modalidades 80 a 87, em que nenhuma semente de uma população de plantas não milho foram semeadas no solo durante qualquer uma das 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais safras anteriores.

[00253] Modalidade 94. Um método para maximizar a receita agrícola de um campo, o referido método compreendendo:

a. determinação de uma primeira receita líquida projetada de

plantios consecutivos de milho por, pelo menos, duas safras no referido campo;

b. determinação de uma segunda receita líquida projetada a partir de uma rotação de milho sobre não milho no referido campo para o mesmo número de safras;

c. determinação de uma terceira receita líquida projetada a partir de plantios consecutivos de milho por pelo menos duas safras no referido campo, em que a referida terceira receita líquida projetada assume que o referido milho e/ou o referido campo serão tratados com um inoculante capaz de reduzir uma penalidade de rendimento de milho sobre milho no referido campo;

d. comparação das referidas primeira, segunda e terceira receitas líquidas projetadas;

e. recomendação de plantios consecutivos de milho; e

f. fornecimento de sementes de milho tratadas com um inoculante compreendendo uma quantidade de *Penicillium bilaii*.

[00254] Modalidade 95. O método das Modalidades 1, 23, 31, 36, 37, 50, 57, 68, 77, 79, 80 e 94, compreendendo ainda a aplicação de uma ou mais composições selecionadas a partir do grupo que consiste em um ou mais elementos agronomicamente benéficos ao solo, um ou mais elementos agronomicamente benéficos à semente, um ou mais elementos agronomicamente benéficos à planta que germina a partir da semente, um ou mais lipo-quito-oligossacarídeo (LCO), um ou mais quito-oligossacarídeo, um ou mais compostos quitinosos, um ou mais isoflavonoides, ácido jasmônicos ou derivados deste, ácido linolênico ou derivados deste, ácido linoleico ou derivados deste, um ou mais karrakinas, um ou mais pesticidas, um ou mais fertilizantes e qualquer combinação das composições acima.

[00255] Modalidade 96. O método da Modalidade 95, compreendendo ainda um micróbio selecionado a partir do grupo consistindo em

gêneros *Rhizobium* spp., *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Arthrobotrys*, *Aspergillus*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *chryseomonas*, *Enterobacter*, *Eupenicillium*, *Exiguobacterium*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Microbacterium*, *Mucor*, *Paecilomyces*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Stenotrophomonas*, *Streptomyces*, *Streptosporangium*, *Swaminathania*, *Thiobacillus*, *Torulospora*, *Vibrio*, *Xanthobacter*, e *Xanthomonas*.

[00256] Modalidade 97. Um método compreendendo:

a. fornecimento, para um agricultor com necessidade, de instruções para reduzir uma penalização de produção de milho sobre milho aplicando uma quantidade eficaz de *Penicillium bilaii* em uma semente de milho ou a plantas que cresçam a partir da referida semente de milho; e

b. fornecimento do referido inoculante ao referido fazendeiro.

[00257] Modalidade 98. O método das Modalidades 95 ou 96, compreendendo ainda um isoflavonoide ou isoflavona.

[00258] Modalidade 99. O método das Modalidades 95, 96 ou 98, compreendendo ainda um pesticida selecionado a partir do grupo que consiste em um fungicida, inseticida ou nematicida.

[00259] Modalidade 100. O método da Modalidade 1, em que o referido inoculante compreende ainda um segundo micro-organismo, um pesticida ou uma combinação destes.

[00260] Modalidade 101. O método da Modalidade 100, em que o referido micro-organismo é selecionado a partir do grupo consistindo de bactérias dos gêneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium* e combinações dos mesmos.

[00261] Modalidade 102. O método das Modalidades 100 ou 101, em que o referido segundo micro-organismo é aplicado a uma taxa de cerca de 1×10^2 , 5×10^2 , 1×10^3 , 5×10^3 , 1×10^4 , 5×10^4 , 1×10^5 , 5×10^5 , 1×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , ou 1×10^8 unidades formadoras de colônias

por semente.

[00262] Modalidade 103. O método da Modalidade 101, em que o referido *Rhizobium* é selecionado a partir do grupo que consiste em *R. cellulosilyticum*, *R. daejeonense*, *R. etli*, *R. galegae*, *R. gallicum*, *R. giardinii*, *R. hainanense*, *R. huautlense*, *R. indigoferae*, *R. leguminosarum*, *R. loessense*, *R. lupini*, *R. lusitanum*, *R. meliloti*, *R. mongolense*, *R. miluonense*, *R. sullae*, *R. tropici*, *R. undicola* e *R. yanglingense*.

[00263] Modalidade 104. O método da modalidade 101, em que o referido *Bradyrhizobium* é selecionado a partir do grupo que consiste em *B. bete*, *B. canariense*, *B. elkanii*, *B. iriomotense*, *B. japonicum*, *B. jicamae*, *B. liaoningense*, *B. pachyrrhizi*, e *B. yuanmingense*.

[00264] Modalidade 105. O método da modalidade 101, em que o referido *Azorhizobium* é selecionado a partir do grupo que consiste em *Caulinodanos* e *A. doebereinae*.

[00265] Modalidade 106. O método da modalidade 101, em que o referido *Sinorhizobium* é selecionado a partir do grupo que consiste em *S. abri*, *S. adhaerens*, *S. americanum*, *S. aboris*, *S. fredii*, *S. indiaense*, *S. kostiense*, *S. kummerowiae*, *S. medicae*, *S. meliloti*, *S. mexicanus*, *S. morelense*, *S. sahelii*, *S. teranga*, e *S. xinjiangense*.

[00266] Modalidade 107. O método da modalidade 101, em que *Mesorhizobium* é selecionado a partir do grupo que consiste em *M. albiziae*, *M. amorphae*, *M. chacoense*, *M. ciceri*, *M. huakuii*, *M. loti*, *M. mediterraneum*, *M. pluifarium*, *M. septentrionale*, *M. temperatum*, e *M. tianshanense*.

[00267] Modalidade 108. O método de qualquer uma das modalidades de 100 a 102, em que o referido pesticida é selecionado a partir do grupo consistindo de um inseticida, um fungicida, um nematicida e combinações dos mesmos.

[00268] Modalidade 109. O método da modalidade 108, em que o

referido fungicida é selecionado do grupo consistindo em piraclostrobina, propiconazol, trifloxistrobina, azoxistrobina, fluxapiroxade e combinações dos mesmos.

[00269] Modalidade 110. O método da Modalidade 1, em que as referidas sementes de milho são tratadas com uma composição selecionada a partir do grupo constituído por ciantraniliprole, tiametoxam, clotianidina, imidacloprid, sedaxano, azoxistrobina, fludioxonil, metalaxil, mefenoxam, tiabendazol, protioconazol, fluoxastrobina, fluxapiroxade, fluopyram, piraclostrobina, fluxapyroxad, fluopyram, pyraclostrobin, VOTiVO™, LCO, *Bradyrhizobium japonicum* e combinações dos mesmos.

[00270] Modalidade 111. O método da Modalidade 1, em que a referida população de plantas de milho é tratada ainda com uma composição selecionada a partir do grupo constituído por um fungicida, herbicida, inseticida, acaricida, nematicida e uma combinação dos mesmos.

[00271] Modalidade 112. O método da Modalidade 111, em que o referido fungicida é selecionado do grupo consistindo em piraclostrobina, propiconazol, trifloxistrobina, azoxistrobina, fluxapiroxade e combinações dos mesmos.

EXEMPLOS

EXEMPLO 1

[00272] É bem documentado que o plantio de milho contínuo (milho após milho em épocas de plantio consecutivas (culturas não rotacionadas) demonstra uma penalidade de rendimento crescente de ano para ano. Por exemplo, o estudo relatado em Gentry *et al. Agron. J.* 105 (2): 295-303 (2013), conforme mostrado na Figura 1, correlaciona a penalidade de produção de milho sobre milho com o número de anos no plantio contínuo de milho e mostra que a penalidade de produção de milho sobre o milho continua aumentado com cada ano de plantio

contínuo de milho.

EXEMPLO 2

[00273] Quatro campos são estabelecidos (F1, F2, F3 e F4), com F1 para plantio consecutivo de milho sobre milho (CC), F2 para CC fornecido com uma quantidade eficaz de inoculante compreendendo *Penicillium bilaii*, F3 para plantio de milho em soja (CS) e F4 para CS com uma quantidade efetiva de inoculante compreendendo *Penicillium bilaii*. As culturas são cultivadas em duas safras consecutivas (GS1 e GS2).

[00274] F1, F2, F3 e F4 são gerenciados com práticas agronômicas padrão.

[00275] Para determinar o rendimento na maturidade fisiológica, os lotes são colhidos utilizando equipamento de pesquisa padrão. A penalização de CC (CCYP) em uma determinada safra de crescimento é calculada subtraindo-se o rendimento de CC ao de CS:

$$CCYP = Y_{CS} - Y_{CC}$$

[00276] A tabela a seguir resume o estudo:

Campo da invenção	Plantio de culturas	GS1	GS2	<i>Penicillium bilaii</i> em GS2	Rendimento em GS2	CCYP
F1	CC	Milho	Milho	-	Y_{CC}	$Y_{CS} - Y_{CC}$
F2	CC (Pb)	Milho	Milho	+	$Y_{CC(Pb)}$	$Y_{CS} - Y_{CC(Pb)}$
F3	CS	Soja	Milho	-	Y_{CS}	N/A
F4	CS (Pb)	Soja	Milho	+	$Y_{CS(Pb)}$	N/A

[00277] Em GS2, o rendimento de milho CC, quando fornecido com uma quantidade *Penicillium bilaii* é maior que o rendimento de milho CC sem *Penicillium bilaii* fornecido (isto é, $Y_{CC(Pb)} > Y_{CC}$). Como resultado, o CCYP em um plantio CC é reduzido quando uma quantidade efetiva de *Penicillium bilaii* é fornecida em relação a um plantio CC sem fornecimento de *Penicillium bilaii* (ou seja, $(Y_{CS} - Y_{CC(Pb)}) < (Y_{CS} - Y_{CC})$).

[00278] $Y_{CC(Pb)}$ é, pelo menos, 100%, 102%, 104%, 106%, 108%, 110%, 115%, 120% ou 125% de Y_{CC} .

[00279] Adicionalmente, em GS2, o rendimento de milho CS, quando fornecido com uma quantidade *Penicillium bilaii* é maior que o rendimento de milho CS sem fornecimento de *Penicillium bilaii* (isto é, $Y_{CS(Pb)} > Y_{CS}$).

[00280] Adicionalmente, em GS2, o rendimento de milho CS, quando fornecido com uma quantidade eficaz de *Penicillium bilaii*, é maior que o rendimento de milho CC quando fornecido com uma quantidade eficaz de *Penicillium bilaii* (isto é, $Y_{CS(Pb)} > Y_{CC(Pb)}$).

EXEMPLO 3

[00281] Um produto contendo *Penicillium bilaii* foi aplicado nas sementes de milho com um fungicida comercial e tratamento de sementes à base de inseticida ("F/I") em uma taxa de aplicação de 0,4 oz por 100 libras de semente de milho. O tratamento de controle utilizado para comparação em cada ensaio foi a semente de milho tratada com fungicida e inseticida base do mesmo híbrido representado no tratamento com *Penicillium bilaii*. Ensaio de campo com um tamanho de lote de 4 linhas por 100 pés de comprimento foram realizados durante 2013 em cada uma das 71 localidades utilizando métodos e equipamentos de pesquisa padrão. Alguns desses locais foram plantados para o milho na safra anterior e foram considerados locais de rotação milho sobre milho, ao passo que outros locais foram plantados para soja na safra anterior e foram considerados locais de rotação soja sobre milho. O projeto experimental foi um projeto em bloco completo randomizado (RCBD) com quatro replicações em cada local. Os dados de produtividade de milho foram analisados após a colheita utilizando o modelo linear misto de melhor estimativa linear e imparcial (BLUE) e o rendimento médio foi calculado para F/I apenas e F/I mais sementes tratadas com *Penicillium bilaii*. A significância foi determinada calculando valores *p*- para F/I e F/I mais condições de *Penicillium bilaii* tratado.

[00282] Quando tirada a média de todas as 71 localizações, o F/I

mais tratamento com *Penicillium bilaii* resultou em um delta de rendimento positivo sobre controle de apenas F/I de 2,22 bu/A (valor $p = 0,18$). Quando apenas as localizações de rotação de milho sobre milho foram consideradas, o F/I mais tratamento com *Penicillium bilaii* resultou em um delta de rendimento positivo sobre o controle de apenas F/I de 5,19 bu/A (valor $p = 0,03$), o que foi um resultado surpreendente de redução significativa da penalização esperada de produção de milho sobre milho nos campos de milho não rotacionados.

[00283] Portanto, os resultados mostraram que o rendimento de milho quando fornecido com um produto que contem *Penicillium bilaii* foi maior que o rendimento de milho sem um produto contendo *Penicillium bilaii*. Como resultado, a penalização de rendimento de milho sobre milho no plantio de milho sobre milho foi reduzida quando o *Penicillium bilaii* foi fornecido em relação a um plantio de milho sobre milho sem adição de *Penicillium bilaii*.

DEPÓSITO DE MATERIAL BIOLÓGICO

[00284] O requerente fez um depósito de duas cepas de *Penicillium bilaii* divulgadas neste documento com o Agricultural Research Service Patent Culture Collection, Northern Regional Research Center (NRRL), 1815 N. University Street, Peoria, Ill., 61604, EUA. Os números de acesso de depósito para as duas cepas de *Penicillium bilaii* são NRRL 50169 e NRRL 50162 e a data do depósito é 28 de agosto de 2008 e 11 de agosto de 2008, respectivamente. Os acessos aos depósitos estarão disponíveis durante a pendência do pedido ao Comissário de Patentes e Marcas e pessoas determinadas pelo Comissário tendo direito aos mesmos mediante pedido. Os depósitos serão mantidos por um período de 30 anos, ou 5 anos após o pedido mais recente, ou pela duração da vida executável da patente, o que for mais longo, e serão substituídos se eles se tornarem inviáveis durante esse período. O requerente não renuncia a qualquer violação de direitos concedidos sob esta patente.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para reduzir a penalização de rendimento de milho sobre milho, caracterizado pelo fato de que compreende:

(a) identificar um campo com necessidade de redução de uma penalização de rendimento de milho sobre milho, em que o referido campo foi plantado com milho na safra anterior,

(b) aplicar um inoculante compreendendo uma ou mais cepas de *Penicillium bilaii* selecionadas dentre o grupo que consiste em ATCC 20851, NRRL 50169, ATCC 22348, ATCC 18309, NRRL 50162, NRRL 50776, NRRL 50777, NRRL 50778, NRRL 50779, NRRL 50780, NRRL 50781, NRRL 50782, NRRL 50783, NRRL 50784, NRRL 50785, NRRL 50786, NRRL 50787, NRRL 50788, RS7B-SD1, e combinações das mesmas, a uma população de plantas de milho, sementes de milho, solo ou uma combinação dos mesmos, que necessite de redução de uma penalização de rendimento de milho sobre milho; e

(c) cultivar ou plantar a referida população de sementes de milho e cultivar a referida população em necessidade no campo, em que uma população de plantas de milho cultivada a partir da referida população de sementes de milho no referido campo exibem uma penalização de rendimento de milho sobre milho reduzida.

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o referido inoculante compreende ainda um fungo *Penicillium* selecionado dentre o grupo que consiste em *P. albidum*, *P. aurantiogriseum*, *P. chrysogenum*, *P. citreonigrum*, *P. citrinum*, *P. digitatum*, *P. frequentas*, *P. fuscum*, *P. gaestrivorus*, *P. glabrum*, *P. griseofulvum*, *P. implicatum*, *P. janthinellum*, *P. lilacinum*, *P. minioluteum*, *P. montanense*, *P. nigricans*, *P. oxalicum*, *P. pinetorum*, *P. pinophilum*, *P. purpurogenum*, *P. radicans*, *P. radicum*, *P. raistrickii*, *P. rugulosum*, *P. simplicissimum*, *P. solitum*, *P. variabile*, *P. velutinum*, *P. viridicatum*, *P. glaucum*, *P. fussiporus* e *P. expansum*.

3. Método, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que o referido inoculante:

(a) compreende ainda um veículo agronomicamente aceitável;

(b) está presente em uma quantidade de $1,0 \times 10^6$ a $1,0 \times 10^{11}$ unidades formadoras de colônias (cfu) por hectare;

(c) é fornecida em uma quantidade de $1,0 \times 10^6$ a $1,0 \times 10^8$ cfu por libra de sementes de milho;

(d) compreende ainda pelo menos $1,0 \times 10^2$ cfu por semente de um segundo micro-organismo, um pesticida ou uma combinação dos mesmos.

4. Método, de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de que o referido segundo micro-organismo é selecionado dentre bactérias do gênero selecionado do grupo consistindo em:

Rhizobium, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*, e combinações dos mesmos,

sendo que a referida *Rhizobium* é selecionada dentre o grupo que consiste em *R. cellulosilyticum*, *R. daejeonense*, *R. etli*, *R. galegae*, *R. gallicum*, *R. giardinii*, *R. hainanense*, *R. huautlense*, *R. indigoferae*, *R. leguminosarum*, *R. loessense*, *R. lupini*, *R. lusitanum*, *R. meliloti*, *R. mongolense*, *R. miluonense*, *R. sullae*, *R. tropici*, *R. undicola*, e *R. yanglingense*;

sendo que a referida *Bradyrhizobium* é selecionada dentre o grupo que consiste em *B. betae*, *B. canariense*, *B. elkanii*, *B. iriomotense*, *B. japonicum*, *B. jicamae*, *B. liaoningense*, *B. pachyrhizi*, e *B. yuanmingense*;

sendo que a referida *Azorhizobium* é selecionada dentre o grupo que consiste em *A. caulinodans* e *A. doebereineriae*;

sendo que a referida *Sinorhizobium* é selecionada dentre o grupo que consiste em *S. abri*, *S. adhaerens*, *S. americanum*, *S. aboris*,

S. fredii, *S. indiaense*, *S. kostiense*, *S. kummerowiae*, *S. medicae*, *S. meliloti*, *S. mexicanus*, *S. morelense*, *S. saheli*, *S. terangae*, e *S. xinjiangense*; e

sendo que a referida *Mesorhizobium* é selecionada dentre o grupo que consiste em *M. albiziae*, *M. amorphae*, *M. chacoense*, *M. ciceri*, *M. huakuii*, *M. loti*, *M. mediterraneum*, *M. pluifarium*, *M. septentrionale*, *M. temperatum*, e *M. tianshanense*.

5. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que a referida aplicação do referido inoculante é selecionada dentre o grupo que consiste em:

revestir as referidas sementes de milho com o referido inoculante antes do plantio,

aplicar o referido inoculante ao solo do referido campo antes do plantio,

aplicar o referido inoculante ao solo do referido campo no momento do plantio,

aplicar o referido inoculante ao solo do referido campo após o plantio,

aplicar o referido inoculante à folhagem da referida população de plantas de milho sendo cultivada no referido campo, e

qualquer combinação dos mesmos.

6. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que:

(a) compreende ainda aplicar uma fonte de fósforo ao solo do referido campo;

(b) o rendimento do referido milho cultivado no referido campo com o referido inoculante é de pelo menos 3% do que um rendimento de milho cultivado em um campo comparável após um ou mais plantios de milho consecutivos sem o referido inoculante;

(c) a referida penalização de rendimento de milho sobre

milho é inferior a 20 bushels/acre;

(d) o referido campo em que o milho foi cultivado durante uma safra que precede imediatamente o plantio das referidas sementes de milho não era pousio em qualquer uma das duas safras que imediatamente precederam o plantio das referidas sementes de milho;

(e) o referido campo não é interplantado em qualquer uma das duas, três, quatro ou cinco safras consecutivas precedentes; ou

(f) a referida população de plantas de milho ou sementes de milho é ainda tratada com um fertilizante.

7. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado pelo fato de que

a referida população de plantas de milho ainda é tratada com uma composição selecionada dentre o grupo que consiste em um fungicida, herbicida, inseticida, acaricida, nematicida e uma combinação dos mesmos.

8. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que:

(a) as referidas sementes de milho são tratadas com uma composição selecionada dentre o grupo que consiste em ciantraniliprole, tiametoxam, clotianidina, imidaclopride, sedaxano, azoxistrobina, fludioxonil, metalaxil, mefenoxam, tiabendazol, protioconazol, fluoxastrobina, fluxapirroxade, fluopyram, piraclostrobina, VOTiVO™, lipo-quito-oligossacarídeos (LCO), *Bradyrhizobium japonicum* e combinações dos mesmos;

(b) o referido inoculante compreende ainda um micróbio selecionado dentre o grupo que consiste nos gêneros *Rhizobium*, *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Arthrobotrys*, *Aspergillus*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *chryseomonas*, *Enterobacter*, *Eupenicillium*, *Exiguobacterium*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Microbacterium*, *Mucor*, *Paecilomyces*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia*,

Stenotrophomonas, Streptomyces, Streptosporangium, Swaminathania, Thiobacillus, Torulospora, Vibrio, Xanthobacter e Xanthomonas; ou

(c) uma ou mais características de crescimento de plantas, selecionada dentre o grupo consistindo em altura da planta, peso da planta, número de espigas, peso da espiga, número de esporos, peso da semente e data de maturidade, é melhorada em pelo menos 1%.

9. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, caracterizado pelo fato de que compreende ainda aplicar uma ou mais composições selecionadas dentre o grupo que consiste em:

um ou mais elementos agronomicamente benéficos para o solo,

um ou mais elementos agronomicamente benéficos para a semente,

um ou mais elementos agronomicamente benéficos para a planta que germina a partir da semente,

um ou mais lipo-quito-oligossacarídeos (LCO),

um ou mais quito-oligossacarídeos,

um ou mais compostos quitinosos,

um ou mais isoflavonoides,

ácido jasmônico ou um derivado do mesmo,

ácido linolênico ou um derivado do mesmo,

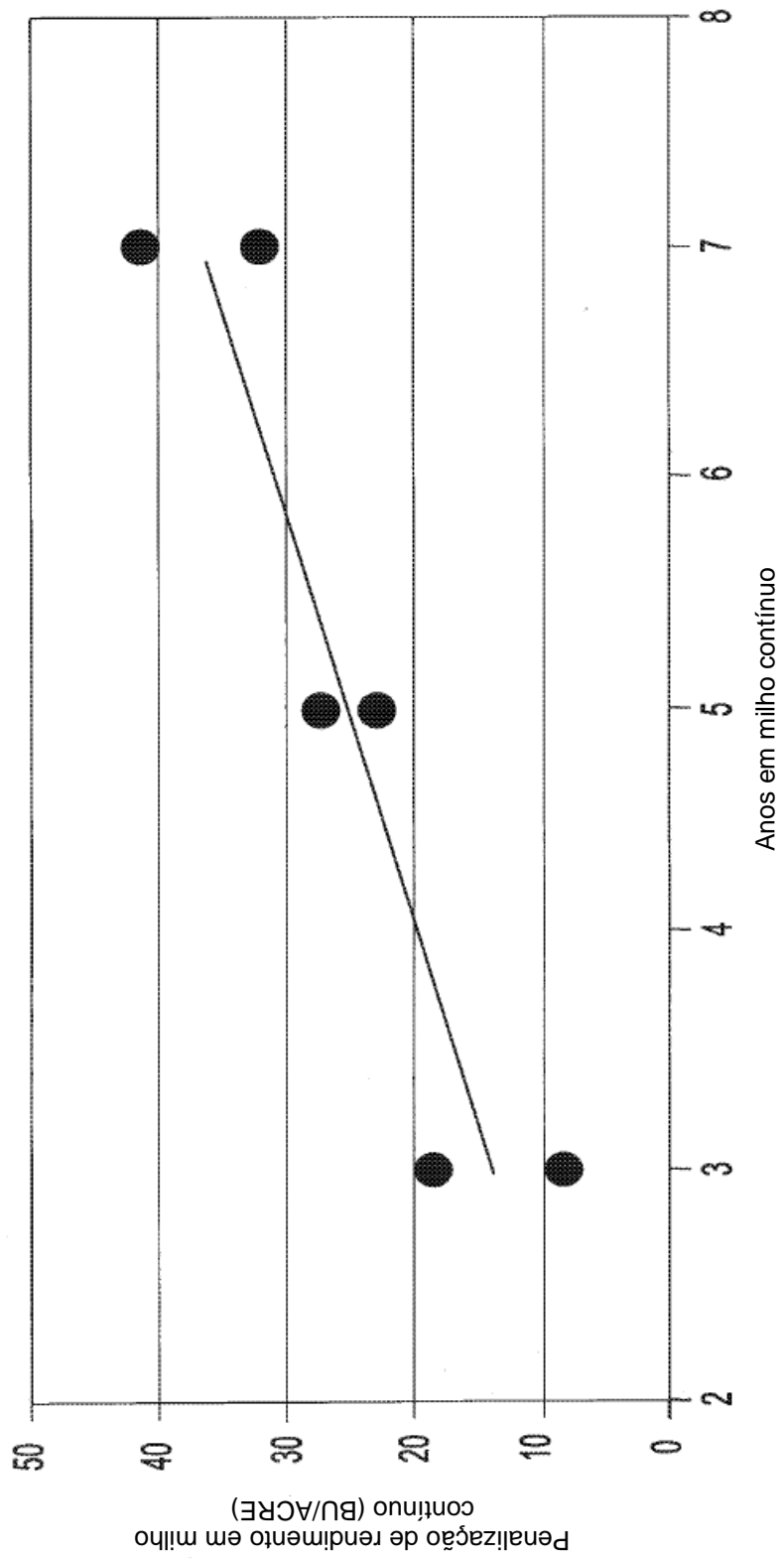
ácido linoleico ou um derivado do mesmo,

um ou mais karrakinas,

um ou mais pesticidas,

um ou mais fertilizantes, e

qualquer combinação das composições acima.

**FIGURA 1**