



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102018016368-0 A2



(22) Data do Depósito: 10/08/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 03/03/2020

(54) **Título:** PROCESSO E PRODUTO DE OBTENÇÃO DE UM BIOFERTILIZANTE À BASE DE TRICHODERMA AUREOVIRIDE E CASCA DE FEIJÃO

(51) **Int. Cl.:** C05F 11/08; C05F 17/00.

(52) **CPC:** C05F 11/08; C05F 17/00.

(71) **Depositante(es):** UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO; UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO.

(72) **Inventor(es):** ERIKA VALENTE DE MEDEIROS; MARCELE DE CASSIA HENRIQUES DOS SANTOS MORAES; JOSE ROMUALDO DE SOUSA LIMA; GUSTAVO PEREIRA DUDA; DIOGO PAES DA COSTA; JENIFER STHEPHANIE ARAUJO DA SILVA; JULYANA BRAGA DE OLIVEIRA; IRIS BARBOSA DE SOUZA; CRISTINA MARIA DE SOUZA MOTTA.

(57) **Resumo:** PROCESSO E PRODUTO DE OBTENÇÃO DE UM BIOFERTILIZANTE À BASE DE *Trichoderma aureoviride* E CASCA DE FEIJÃO A presente invenção descreve o processo de obtenção de um biofertilizante que une os benefícios conferidos aos solos e às culturas pelo biochar de cascas de feijão e pelo fungo *Trichoderma aureoviride*. Esse produto permite o aproveitamento dos resíduos da cultura do feijão, maximizando os seus benefícios e a velocidade de resposta no solo, destacando o aumento da saturação por bases (SB), do pH e da capacidade de troca de cátions (CTC), além da manutenção das comunidades microbianas nativas em vários solos. Além do mais, a combinação desses dois elementos também confere ao produto final características que não são igualmente relevantes em seus usos isoladamente, como o aumento na disponibilidade de fosfato na solução do solo, maior desenvolvimento das raízes e crescimento vegetativo das plantas. Esses benefícios resultam em ganhos de produtividade e em economia devido a minimização do uso de fertilizantes industriais, além de assegurar a integridade ambiental e a segurança alimentar e do solo, sendo uma importante ferramenta alternativa para os produtores de alimentos, utilizando uma agricultura sustentável.



“PROCESSO E PRODUTO DE OBTENÇÃO DE UM BIOFERTILIZANTE À BASE
DE *Trichoderma aureoviride* E CASCA DE FEIJÃO”

RELATÓRIO DESCRITIVO

Campo de invenção

[001] O presente pedido de patente de invenção descreve um processo de obtenção de um biofertilizante à base de biochar de casca de feijão inoculado com o fungo multifacetado *Trichoderma aureoviride* e o produto a partir deste biofertilizante. Esta se situa no campo da biotecnologia aplicada à agricultura sustentável.

Antecedentes da invenção

[002] O uso indiscriminado de insumos químicos na agricultura trouxe riscos alarmantes ao meio ambiente, ao solo, plantas e aos animais. Por isso, a busca por novas tecnologias sustentáveis vem ganhando mais espaço nos últimos anos. Uma das tecnologias para evitar a utilização de produtos químicos é a aplicação de microrganismos e biochar no solo, visando garantir a integridade ambiental e a segurança alimentar e do solo.

[003] Entre os microrganismos benéficos, encontra-se o *Trichoderma*, este por sua vez consiste em um fungo multifacetado que lida com o problema de nutrição, salinidade do solo, seca e doenças de plantas. Este microrganismo é capaz de solubilizar os minerais presentes no solo, produzir hormônios de crescimento de plantas, aumentar a eficiência do uso da água, estimular a defesa da planta e antagonizar os patógenos, assim, melhora significativamente a saúde da cultura (Khan & Mohiddin. In: Crop Imp. Thro. Micro. Bio. 263-291, 2018).

[004] Fungos do gênero *Trichoderma* atuam na colonização e penetração da superfície das raízes das plantas, onde o crescimento é então limitado principalmente ao apoplasto, à epiderme e às primeiras camadas de células corticais. Certas cepas de *Trichoderma* são relatadas como endofíticas sistêmica, antagonizando diretamente os patógenos das plantas, ao mesmo tempo o crescimento e a resistência das plantas contra ataques de patógenos (Mendonza-Mendonza et al. Fung. Bio. Revi. 32: 65-82,

2018). Além disso, este microrganismo exerce efeitos benéficos sobre as plantas em termos de melhoria ou manutenção da produtividade do solo, aumento de porcentagens e taxas de germinação de sementes, absorção de nutrientes, promoção do crescimento, alívio de efeitos de estresse abiótico (Mendonza-Mendonza et al. Fung. Bio. Revi. 32: 65-82, 2018).

[005] Já o biochar é um material carbonáceo conhecido como “Terra preta dos Índios” (terra rica em matéria orgânica e muito fértil), produzido através de pirólise de algum tipo de biomassa (podendo ser palha de arroz, estrume, madeira entre outras) capaz de melhorar a estrutura física e até química do solo (Waqas et al. J. of envi. Manag. 216: 70-81, 2018). Este material contém mais 70 a 80% de carbono (C). Além do C, o biochar é rico em oxigênio, nitrogênio e outros elementos, também é constituído principalmente por compostos alquílicos e aromáticos relativamente estáveis (Tan et al. App. Soil Eco. 116: 1-11, 2017).

[006] Do mesmo modo, é muito eficaz na imobilização, adsorção e sequestro de vários metais pesados e sequestro de carbono, além de aumentar a alcalinidade, o carbono e a matéria orgânica do solo, sendo um favorável habitat para microrganismos presente no solo, melhorando assim a produtividade das culturas (Kumar et al. Scien. The Tot. Envi. 626: 953-961, 2018).

[007] Diante disso, ainda existe uma lacuna a respeito do efeito combinado de Biochar com microrganismos promotores de crescimento de plantas. Logo, o objetivo da presente patente foi avaliar o impacto do biochar de casca de feijão com *Trichoderma aureoviride* sobre a melhoria dos atributos do solo e no desenvolvimento das plantas.

[008] Dentre os documentos encontrados na literatura patentária relacionados ao biochar, grande parte diz respeito aos processos de produção e funcionamento dos equipamentos para a produção do mesmo (biocarvão), assim como o seu emprego no feitio de fertilizantes organominerais. Como nos seguintes documentos:

[009] O documento BR1120130313668(A2), por exemplo, descreve um método para tornar o carvão de aparelho fracionador de biomassa (carvão BMF) adequado para adição ao solo em altas concentrações. Esse processo compreende a remoção de hidrocarbonetos e de gases prejudiciais ao carvão BMF, além da introdução de microrganismos ao mesmo e o ajuste do pH do solo.

[010] O documento BR1020150278500(A2), por sua vez, registra a criação de um processo industrial completo. Esse método inclui os equipamentos para produção de um fertilizante mineral customizado utilizando o biochar como um veículo de aplicação ao solo. Outro documento, BR2020120221387(U2) registra um equipamento produtor de biocarvão por processo termiquímico (reator). Esse recebe matéria prima na forma de polpa em tanque que, pela ação de pistão, é pressionada e pré-aquecida, tendo a temperatura ajustada e depois resfriada em trocador de calor. Por fim, o produto é recolhido para posterior desagendamento.

[011] A presente invenção faz uso de um biochar obtido de modo semelhante ao descrito no documento BR1120160184246(A2), que narra a transformação de biomassa em um biocarvão através das seguintes etapas: **(a)** entrada de material moído e seco em reator, que contém ao menos 30% de biomassa lignocelulósica; **(b)** progressivo aquecimento desta biomassa a uma temperatura superior a 140 °C e inferior a 350 °C, em uma corrente de gás inerte livre de oxigênio, a uma pressão compreendida entre 1 e 40 bar; **(c)** Manutenção da reação no intervalo entre 300 a 700 °C e sob pressão de 1 a 40 bar. **(d)** resfriamento da biomassa derivada a partir da etapa anterior a uma temperatura de, no máximo, 100 °C em uma corrente de gás inerte livre de oxigênio; **(e)** coleta do biocarvão. Entretanto, para obtenção do nosso produto foi utilizado um equipamento diferente, assim como a temperatura de manutenção (450 – 500 °C), o que gera um produto com diferentes características físico-químicas.

[012] No referente ao emprego de fungos do gênero *Trichoderma* spp. em processos para o desenvolvimento de plantas, existem poucas patentes. A busca na base do INPI (Instituto Nacional da Propriedade Industrial) retornou apenas 24 resultados para *Trichoderma*. Dentre esses, apenas quatro fizeram referências diretas ao desenvolvimento de plantas, sendo os seguintes pedidos: BR1020150330723 – descreve uma “formulação a base de *Trichoderma* spp. para tratamento de sementes”; BR1120160193938 – descreve uma “proteína, método para produzir uma proteína, cepa mk1 de *Trichoderma longibrachiatum*, semente, e método para cultivar um número de plantas”; PI0822486-2 – descreve o uso de “*Trichoderma atroviride* sc1 para controle biológico de doenças fúngicas em plantas”; PI8802552-7 – descreve um “processo de produção de material ativo de *Trichoderma* para colonização de solo

esterelizado visando o controle de fungos que causam podridões de raízes de macieiras”.

[013] A busca na plataforma na base do Espacenet também foi feita. Dentre os resultados retornados, existe o registro MX2017003658(A), que descreve sobre composições e métodos de uso de diversas espécies de *Trichoderma*. Entretanto, esse registro não menciona sobre a espécie trabalhada no presente invento (*T. aureoviride*), limitando-se ao uso dos fungos *T. harzianum*, *T. lignorum*, *T. viridae*, *T. reesei*, *T. koningii*, *T. pseudokoningii*, *T. polysporum*, *T. hamatum* e *T. asperellum* para o controle de doenças de planta.

[014] Outro registro encontrado nessa plataforma foi o CN107652980(A), que é uma patente de origem chinesa que descreveu o desenvolvimento de um condicionador de solo para o cultivo de *Gerbera jamesonii*, envolvendo em sua fabricação gangas e pó de carvão vegetal, goma de tamarindo, farelo de arroz, ácido acético, humato de potássio quelatado, cal apagada, formalina, *Trichoderma*, bactérias nitrificantes e água purificada. Entretanto, esse processo não fez referência ao uso de *Trichoderma aureoviride* ou ao uso de cascas de feijão, como o presente invento. Desse modo, nosso produto propõe um método muito mais simples para se gerar um condicionador de solo de amplo espectro de atuação, capaz de beneficiar o desenvolvimento de várias espécies vegetais com baixo custo, graças à simplicidade do processo e à disponibilidade abundante da sua matéria prima (cascas de feijão).

[015] Outro registro, CN107628882(A), relata a utilização de *Trichoderma* no desenvolvimento de um fertilizante biológico de liberação controlada para utilização em árvores de *Fructus Jujubae*, “Tâmara chinesa”, desenvolvendo a cultura e prevenindo contra doenças e insetos-praga. Notadamente, produto se distingue do nosso, tanto pela cepa do fungo (*Trichoderma harzianum*) quanto pelo processo de fabricação, já que utiliza citrato férrico, fosfato diamônico, nitrato de potássio, cloreto de amio, ureia, polifosfato de amio e quitina, além de outros. Logo, esse produto se assemelha a outros fertilizantes químicos de alto custo frequente empregados na agricultura brasileira, o que se distancia da proposta do nosso produto.

[016] Outro exemplo é o relatado no registro CN107473824(A), que descreve um processo mais complexo para a fabricação de um biofertilizante fluido de biogás obtido por fermentação anaeróbica a partir de galinhas poedeiras, que conferem a

principal matéria-prima. Esse produto tem sua flora microbiana preparada a partir de *Trichoderma aureoviride* junto a estirpe bactéria *Bacillus subtilis*.

[017] No geral, no momento dessa edição, as buscas através da plataforma Espacenet retornaram apenas cerca de 60 registros, em todo o mundo, de patentes para os mais variados processos e aplicações utilizando a estirpe *Trichoderma aureoviride*, sobretudo a respeito da utilização desse fungo como inibidor da atividade de certos fitopatógenos. A grande maioria desses registros relataram processos complexos e, aparentemente, de custos relativamente altos para obtenção dos produtos, em comparação ao nosso. Apenas alguns exploraram os benefícios de *T. aureoviride* às plantas e ao solo, o que ressalta a necessidade do desenvolvimento do nosso produto, mostrando-se competitivo aos atualmente disponíveis no mercado, devido também à simplicidade de obtenção e a sua eficácia confirmada.

[018] De modo exploratório, as buscas nas plataformas de registros de patentes levaram a conclusão de que não apenas o nosso produto é exclusivo como também abriga componentes (biochar e *T. aureoviride*) com eficácia comprovada, seja para o desenvolvimento de plantas ou para melhorias nos atributos físico-químicos dos solos em geral. Logo, a utilização de biochar de casca de feijão como veículo de inoculação de *Trichoderma aureoviride* trata-se de uma invenção inovadora no campo da agricultura. Além dessa invenção combinar as vantagens dos dois, também proporciona a expressão de outros benefícios não observados nesses elementos isoladamente, como por exemplo: **(a)** a expressão de certas enzimas do solo responsáveis pelo metabolismo do carbono; **(b)** a maior disponibilização de fósforo às plantas; **(c)** e o aumento do desenvolvimento de raízes.

[019] No mercado existe um produto denominado ICB Nutrisolo *Trichoderma*, da empresa ICB BIOAGRITEC Ltda, que afirma proporcionar melhorias na produtividade das culturas, assim como o proposto pelo. Esse produto foi o primeiro inoculante de *Trichoderma* spp. lançado no Brasil com a promessa de aumentar a biomassa radicular. Entretanto, nosso produto apresenta distinções significativas com relação ao ICB Nutrisolo *Trichoderma*.

[020] Inicialmente, o ICB Nutrisolo *Trichoderma* é um produto fabricado e enriquecido com três espécies de *Trichoderma*: *T. harzianum*, *T. asperellum* e *T. koningiopsis* e vem na forma de solução. Os ensaios com o nosso produto apontam

para elevados ganhos de desenvolvimento das culturas utilizando apenas a espécie *T. aureoviride*, que não está presente no ICB Nutrisolo *Trichoderma*.

[021] O nosso produto, além de proporcionar todos os benefícios do ICB Nutrisolo *Trichoderma*, vem no estado sólido e tem proposta diferente. Nesse caso, o nosso sugere o aproveitamento de recursos naturais disponíveis nas áreas de agricultura sustentável, pois reaproveitará resíduos que não teriam uma destinação apropriada. No caso da casca de feijão, se trata de um resíduo muito abundante e de baixo custo, resultando no produto ideal para inoculação de *T. aureoviride*, após pirolise das cascas em reator durante apenas 48 h. O produto, além de promover o desenvolvimento das plantas, visa preservar a estrutura das comunidades microbianas benéficas graças a especificidade do seu substrato e às transformações físico-químicas que o mesmo faz nos solos. Em síntese, o biofertilizante une os benefícios do biochar com os que são proporcionados pela inoculação das plantas com *Trichoderma* spp., diferentemente do ICB BIOAGRITEC Ltda., oferecendo amplo espectro de atuação tanto no aumento da produtividade agrícola como também na recuperação de áreas degradadas.

[022] Diante do apresentado no estado da técnica, não foram encontrados documentos registrando a utilização de biochar produzido a partir de cascas de feijão como meio de inoculação para *Trichoderma* spp. Logo, a presente invenção se revela como sendo exclusiva, tratando-se de um meio inovador de inserir e potencializar a atividade de microrganismos nos solos. Neste caso, é utilizado o fungo *Trichoderma* spp., aumentando o crescimento das plantas e melhorando as características dos solos, principalmente os mais ácidos – pobres em nutrientes (comuns no Brasil), graças ao efeito da combinação entre *Trichoderma aureoviride* e o biochar de cascas de feijão.

[023] Muitos trabalhos científicos foram publicados relatando os benefícios isolados do biochar e do fungo *T. aureoviride* sobre o desenvolvimento das plantas e melhorias nas propriedades do solo, porém não foram encontrados o efeito combinado. Sabe-se que o *T. aureoviride* tem o potencial de colonizar tanto na rizosfera (Oskiera et al. Biol. Cont. 113: 65-72, 2017) como também endofiticamente as plantas (Kiriga et al. Bio. Cont. 119: 1-68, 2018), desenvolvendo as raízes e aumentando a sua área de absorção.

[024] No caso do biochar, isoladamente, eleva a saturação por bases nos solos, o pH e a capacidade de troca de cátions (CTC), diminuindo a fito-toxidez por Al^{3+} . Além disso, o biochar pode estimular a síntese de fitases por microrganismos do solo, aumentando a solubilização das espécies químicas de fósforo mais recalcitrantes, como fosfato tricálcico ($Ca_3(PO_4)_2$) (Saravanakumar et al. Aquat. Botan. 104: 101-105 2013).

[025] Benéficos da inoculação de *T. aureoviride* nos solos, através do biochar de casca de feijão, podem ser mencionados, destacando: o potencial desse fungo em controlar a podridão negra e radicular da mandioca, causadas pelos fungos patogênicos *Fusarium* sp. (Silva et al. J. of Phyto. 164: 1003-1011, 2016); indução de tolerância nas plantas contra o estresse oxidativo e salinidade do solo (Jalali et al. Fung. Ecol. 29: 67-75, 2017; Kiriga et al. Bio.Cont. 119: 1-68, 2018); e a promoção de crescimento em alface (Moraes et al. Ver. Caat. 2018, aceito). Outros trabalhos relatam o potencial de *T. aureoviride* em inibir diversos outros fitopatógenos, promovendo o crescimento vegetal (Oskiera et al. Biol. Cont. 113, 65-72, 2017; Silva et al. J. of Phyto. 164: 1003-1011, 2016) e mantendo a conservação e produtividade dos solos (Mendoza-Mendoza et al. Fun. Biol. Revi. 32: 62-85, 2018).

[026] Dentre as citações acima, várias outras pesquisas relacionadas com a utilização do biochar foram encontradas: (a) Tan et al. Scie. Tot. Envi. 622-623: 79-87, 2018; (b) Jin et al. Evi. Poll. 236: 745-753, 2018; (c) Weber & Quicker Fuel. 217: 240-261, 2018; (d) Mosa et al. Chem. 198: 351-363, 2018; (e) Yang et al. Chem. 2018, manuscrito aceito 12 de abr.

[027] Outros trabalhos com *Trichoderma* spp. também podem ser mencionados: (a) Souza et al. Bio. Agri. Biot. 14: 183-188, 2018; (b) Locatelli et al. Biol. Cont. 117: 21-29, 2018; (c) Zaidi et al. Fie. Cro. Res. 220: 97-104, 2018.

[028] Apesar de todos esses estudos, nenhum relatou a relevância da combinação biochar + *T. aureoviride* sobre o desenvolvimento das plantas, o que levou à pesquisa para o desenvolvimento do presente produto. O mesmo pode representar significativos aumentos na produtividade das culturas, além de gerar economia na utilização de fertilizantes minerais, já que o biofertilizante pode aumentar disponibilidade de K, Ca e P às plantas, mesmo em solos com baixos teores trocáveis

desses elementos. Portanto, a combinação biochar + *Trichoderma aureoviride* é alvo da reivindicação no nosso produto.

Descrição da invenção

[029] A presente invenção refere-se a um novo biofertilizante com combinação de *Trichoderma aureoviride* e biochar de casca de feijão (*Vigna unguiculata*) (SisGen Cadastro nº A0E5620), na hipótese de que o biochar serviria como veículo de inoculação para o microrganismo *Trichoderma*, melhorando diversos atributos do solo que elevam a produtividade das culturas. Além disso, aproveitar o uso dos resíduos é interessante, pois apresentam pelo menos duas vantagens: retirar o resíduo do ambiente e aproveitá-los para aplicar na agricultura sustentável, melhorando a qualidade dos solos e a produção das plantas.

[030] Neste sentido, a presente invenção pode ser melhor compreendida nas seguintes figuras

[031] Figura 1: Biofertilizante de casca de feijão após término do processo de pirólise lenta.

[032] Figura 2: Conídios de *Trichoderma aureoviride* em microscópio óptico.

[033] Este relatório descreve a obtenção de um produto condicionador de solo e promotor do crescimento vegetal a partir da pirólise lenta da casca de feijão, homogeneização por processo de separação física com poro preferencial de 2 mm, seguida por inoculação com o fungo *Trichoderma aureoviride*. Esta invenção se insere no campo da Biotecnologia aplicada à agricultura sustentável, visando o desenvolvimento das plantas através do efeito combinado do biochar com *T. aureoviride*, destacando: (a) o aumento do pH, da saturação por bases (SB) e da capacidade de troca de cátions (CTC) nos solos; (b) a precipitação do Al³⁺ (tóxico às plantas); (c) o aumento da tolerância das plantas aos fitopatógenos; (d) o aumento do vigor das plantas através da produção de fito-hormônios (AIA) e da solubilização de fósforo pelo fungo *T. aureoviride* em solos com baixa disponibilidade desse elemento, dentre outros benefícios.

[034] A presente invenção é concebida através de etapas: (a) partindo da obtenção das cascas de feijão; (b) passando pelo processo de fabricação do biochar através da pirólise lenta do material e homogeneização por processo de separação

física com poro preferencial de 2 mm e (c) chegando até o processo de inoculação com *T. aureoviride*, como descrito abaixo.

[035] Os ensaios para a fabricação do presente produto foram feitos na cidade de Garanhuns-PE, região Nordeste do Brasil que está dentre as maiores produtoras de feijão do país. Entre as principais características dessa cultura, que despertaram o interesse para a sua utilização, se destacaram: (a) a sua predominância nas áreas produtivas da região; (b) a abundante oferta em feiras livres; e (c) a sua grande importância econômica e social local e no estado de Pernambuco (PE), gerando renda e alimento para inúmeras pessoas na modalidade denominada de “agricultura familiar”. Além do mais, o feijão é um alimento rico em nutrientes e proteínas, estando presente na dieta da maioria dos brasileiros. Dentre as variedades de feijão, destaca-se pelo seu desenvolvimento vegetativo, vigor e produtividade de grãos e de resíduos a espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp, popularmente conhecida como feijão de corda, feijão verde ou massacar, sendo a variedade escolhida para o desenvolvimento do presente produto e processo.

[036] O método de obtenção do biochar desta invenção é comumente utilizado por agricultores tailandeses, de acordo com as citações da literatura científica (Prakongkep et al. J. Plant Nut. Soil Sci. 178(5): 732-740, 2015). Neste caso, o processo de obtenção do biochar é caracterizado pela pirólise lenta da casca de feijão onde o processo compreende até 48 horas de combustão de sob temperatura entre 450 a 500 °C, apresentando um rendimento em torno de 32%. Inicialmente, o material (substrato) é triturado e colocado dentro de um cilindro compreendido de 54,0 cm de altura e 29,5 cm de diâmetro. Posteriormente, esse cilindro é acoplado em uma estrutura, sob a qual existe outro cilindro com 80 cm de altura e 59 cm de diâmetro, sendo este o forno propriamente dito. A esse último componente é adicionado o combustível que inicia reação, no caso foi utilizada a madeira. O Biochar obtido é então homogeneizado por processo de separação física com poro preferencial de 2 mm.

[037] O fungo *T. aureoviride* (Figura 2) foi selecionado como inoculante do presente produto devido os inúmeros relatos da literatura científica apontando o potencial dessa espécie, e de várias outras de seu gênero, em promover o desenvolvimento das plantas através de diversos mecanismos. Inicialmente, o

potencial dessa espécie foi notado através de sua habilidade em produzir quitinases, de acordo com os resultados do trabalho científico de Silva et al. J. of Phyto. 164: 1003-1011 (2016). Além disso, várias patentes citam o uso de *T. aureoviride*, e gêneros associados, como elemento na composição de produtos mais complexos com finalidades diversas, seja para a criação de condicionadores de solo ou para a síntese de subprodutos, apontando enorme potencial desse fungo. Entretanto, nosso produto é mais simples e não foi encontrado qualquer registro de patente sobre a introdução desse fungo aos solos utilizando o biochar como via de inoculação. O isolado de *T. aureoviride* foi obtido da coleção de culturas URM da Universidade Federal de Pernambuco (<https://www.ufpe.br/micoteca/>). Os propágulos de *T. aureoviride* foram reativados em meio líquido contendo carboidratos de fácil degradação, compreendendo em Batata Dextrose (BD) através de três subculturas sucessivas incubadas a uma faixa de temperatura entre 20 a 30 °C preferencialmente a 27 °C (± 2) em câmara de Demanda Bioquímica de Oxigênio (BOD), durante 8 dias. O número de conídios de *T. aureoviride* crescidos em meio BDA foram contados com auxílio de uma Câmera de Neubauer (hemacitômetro) ao microscópio ótico (Figura 1), determinando-se a concentração ideal desses propágulos para a adição no biochar, que foi de cerca de 1500×10^6 propágulos mL⁻¹ em meio BDA.

[038] Obtenção do produto: nessas condições, para o feitiço do produto final, a razão ideal entre a suspensão do fungo e a massa de biochar foi de 3:1 (L/Kg) de *T. aureoviride* / biochar, chegando-se assim ao nosso biofertilizante.

Exemplo 1: Aplicação do Biofertilizante na cultura do melancia

[039] Após a formulação do produto, dois ensaios foram conduzidos em casa de vegetação para se determinar a sua contribuição para fertilidade do solo e para o desenvolvimento das plantas. O primeiro ensaio utilizou-se a cultura da melancia (*Citrullus lanatus*), variedade *Vereda style*. Os resultados revelaram que o Biofertilizante é rico em carbonatos de cálcio e, principalmente, de potássio, principais substâncias responsáveis pelo seu pH alcalino (pH_{1-5 em H₂O} = 10,47). Em ensaio em casa de vegetação, a utilização de apenas 32 g de biofertilizante incorporados em 4 kg de solo foi suficiente para elevar o pH de 4,91 para 6,91 em apenas 58 dias. Esse resultado foi satisfatório, tendo em vista que uma grande quantidade de calcário com

alto poder de neutralização total (PRNT 80%) seria necessária para se obter uma elevação equivalente no pH desse solo. Além disso, existe um consenso no meio agrônomo que essas fontes devem ser adicionadas aos solos com a antecedência de 2 a 3 meses para uma efetiva neutralização da acidez em tempo hábil para a implantação das culturas.

[040] Esses resultados refletem uma eficiente correção do pH e da fertilidade dos solos pelo biofertilizante de casca de feijão, proporcionando incrementos significativos na saturação por bases (SB), na capacidade de troca de cátions (CTC) e na adsorção do alumínio tóxico livre (Al^{3+}). No geral, os teores de Ca^{2+} , K^+ e Mg^{2+} foram de 0,03, 7,6 e 4,2 $cmol_c\ kg^{-1}$ do biofertilizante. Além do mais, cada kg do nosso produto conteve cerca de 5,8 mg de P solúvel, mostrando grande potencial para a correção de solos pobres desse nutriente.

[041] Com relação aos efeitos exclusivos da fórmula de biochar de casca de feijão com o fungo *T. aureoviride*, os ensaios revelaram que a principal contribuição conferida pelo biofertilizante sobre as plantas é no desenvolvimento das raízes. O nosso produto contribui com o aumento do diâmetro das raízes e com o incremento tanto de sua massa seca quanto a fresca. No geral, o produto aumentou em surpreendentes nove vezes a massa seca das raízes de melancia e em 2.6 vezes a massa fresca das raízes, aumentando também o diâmetro das mesmas em pouco mais de 9%, com relação a testemunha. Esses ganhos também se refletiram na parte aérea, havendo um aumento de 88% na sua massa seca, de 63% em sua massa fresca, de 24% no comprimento do ramo principal, com relação ao controle. Desse modo, o produto revela um enorme potencial para o desenvolvimento das plantas, potencializando a capacidade das mesmas em buscar nutrientes no solo, aumentando o vigor e a tolerância ao estresse hídrico e ao ataque de fitopatógenos.

[042] Além disso, o biofertilizante estimula a produção da enzima β -glicosidase no solo, produzindo cerca de 48 μg p-Nitrofenol g^{-1} de solo h^{-1} , contra apenas 39 o controle (sem biofertilizante), sendo essa diferença estatisticamente significativa ao nível de 1%. Essa enzima é responsável pela decomposição de carboidratos de baixo peso molecular liberando glicose, fonte de energia fundamental para a proliferação de muitos microrganismos benéficos do solo. Desse modo, o produto faz a manutenção das comunidades microbianas do mesmo, aumentando a sua sustentabilidade.

[043] Além desses benefícios, o nosso produto revelou um grande aumento dos teores de P disponível às plantas. Os ensaios comparando ao controle, a adição do biofertilizante (*T. aureoviride* + biochar) ao solo revelaram que ele foi significativamente superior a todos com relação a disponibilização de P, respectivamente: 0,87, 3,4 e 4,1 mg kg⁻¹ de P₂O₅ solúvel. Logo, além das vantagens já mencionadas, o nosso produto se revela como um grande estimulante dos processos microbiológicos relacionados a solubilização de formas de P mais recalcitrantes.

Exemplo 2: Aplicação do Biofertilizante na cultura do melão

[044] A segunda aplicação foi avaliar o impacto do biofertilizante sobre a qualidade do solo cultivado com melão (*Cucumis melo* L.) BRS Araguaia Híbrido. No qual, foram avaliadas as características da planta, atributos químicos do solo, carbono da biomassa microbiana e atividades enzimáticas (dos ciclos do C, N e P). O efeito da aplicação do biofertilizante foi significativo para o carbono da biomassa microbiana, revelando a capacidade dessa combinação sobre este componente lábil da matéria orgânica do solo. Além disso, os atributos metabólicos como carbono orgânico total e fosfatase alcalina foram afetados positivamente pelo nosso produto, demonstrando que o biofertilizante teve maior acúmulo de nutrientes, na ciclagem de C no desenvolvimento das plantas. Ainda sobre os impactos feitos pelo biofertilizante, podemos destacar o comprimento dos ramos e das raízes, demonstrando assim, que este produto é eficiente para o aumento da produtividade da cultura do melão, já que, essas variáveis são de extrema importância para o desempenho da planta em se estabelecer. Os atributos químicos (Na, P, Mg²⁺, pH e K⁺) do solo também foram afetados pela aplicação do biofertilizante.

REINVINDICAÇÕES

1. “PROCESSO E PRODUTO DE OBTENÇÃO DE UM BIOFERTILIZANTE À BASE DE *Trichoderma aureoviride* E CASCA DE FEIJÃO” **caracterizado por** um processo de obtenção de um biofertilizante a partir da pirólise lenta da casca de feijão sob alta temperatura para produção de um pó denominado biochar, seguido de homogeneização da granulometria do referido biochar, sendo este usado em uma mistura com meio *Trichoderma aureoviride* previamente cultivado em meio líquido aeróbico contendo carboidratos de fácil degradação.
2. “PROCESSO E PRODUTO DE OBTENÇÃO DE UM BIOFERTILIZANTE À BASE DE *Trichoderma aureoviride* E CASCA DE FEIJÃO”, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pela** pirólise lenta da casca de feijão onde o processo compreende até 48 horas de combustão de sob temperatura entre 450 a 500 °C.
3. “PROCESSO E PRODUTO DE OBTENÇÃO DE UM BIOFERTILIZANTE À BASE DE *Trichoderma aureoviride* E CASCA DE FEIJÃO”, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pela** homogeneização ocorrer por processo de separação física com poro preferencial de 2 mm.
4. “PROCESSO E PRODUTO DE OBTENÇÃO DE UM BIOFERTILIZANTE À BASE DE *Trichoderma aureoviride* E CASCA DE FEIJÃO”, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** cultivo do fungo multifacetado, o *Trichoderma aureoviride*, ocorrer em meio líquido aeróbico e conter carboidratos de fácil degradação compreendendo o meio batata-dextrose.
5. “PROCESSO E PRODUTO DE OBTENÇÃO DE UM BIOFERTILIZANTE À BASE DE *Trichoderma aureoviride* E CASCA DE FEIJÃO”, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pela** mistura do meio líquido do *Trichoderma aureoviride* com o pó do biochar ser preferencialmente na proporção de 3:1 (L/Kg).
6. “PROCESSO E PRODUTO DE OBTENÇÃO DE UM BIOFERTILIZANTE À BASE DE *Trichoderma aureoviride* E CASCA DE FEIJÃO”, **caracterizado por** um produto a partir de um biofertilizante que pode ser usado na agricultura sustentável.

1/2



Figura 1

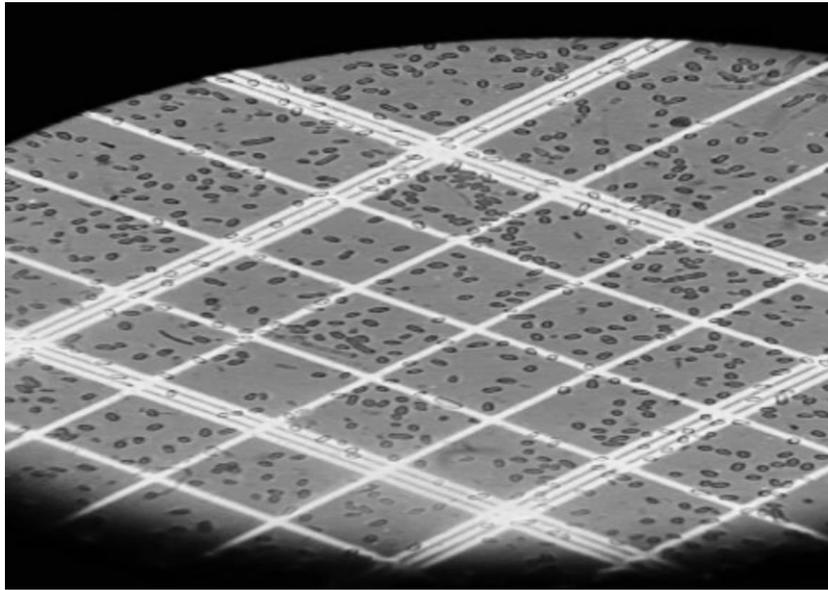


Figura 2

RESUMO

“PROCESSO E PRODUTO DE OBTENÇÃO DE UM BIOFERTILIZANTE À BASE DE *Trichoderma aureoviride* E CASCA DE FEIJÃO”. A presente invenção descreve o processo de obtenção de um biofertilizante que une os benefícios conferidos aos solos e às culturas pelo biochar de cascas de feijão e pelo fungo *Trichoderma aureoviride*. Esse produto permite o aproveitamento dos resíduos da cultura do feijão, maximizando os seus benefícios e a velocidade de resposta no solo, destacando o aumento da saturação por bases (SB), do pH e da capacidade de troca de cátions (CTC), além da manutenção das comunidades microbianas nativas em vários solos. Além do mais, a combinação desses dois elementos também confere ao produto final características que não são igualmente relevantes em seus usos isoladamente, como o aumento na disponibilidade de fosfato na solução do solo, maior desenvolvimento das raízes e crescimento vegetativo das plantas. Esses benefícios resultam em ganhos de produtividade e em economia devido a minimização do uso de fertilizantes industriais, além de assegurar a integridade ambiental e a segurança alimentar e do solo, sendo uma importante ferramenta alternativa para os produtores de alimentos, utilizando uma agricultura sustentável.