



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

(21) BR 102020019060-1 A2



(22) Data do Depósito: 23/09/2020

(43) Data da Publicação Nacional: 05/04/2022

(54) **Título:** PROCESSO E PRODUTO DE OBTENÇÃO DE UM INOCULANTE À BASE DE BIOCARVÃO DE TORTA DE SEMENTES DE GRAVIOLA E TRICHODERMA AUREOVIRIDE

(51) **Int. Cl.:** C05F 11/08; C05G 5/40.

(52) **CPC:** C05F 11/08; C05G 5/40.

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

(72) **Inventor(es):** ERIKA VALENTE DE MEDEIROS; JENIFER STHEPHANIE ARAUJO DA SILVA; JULYANA BRAGA DE OLIVEIRA; DIOGO PAES DA COSTA; RAFAELA FELIX DA FRANCA; JOSE ROMUALDO DE SOUSA LIMA; GUSTAVO PEREIRA DUDA; CRISTINA MARIA DE SOUZA MOTTA; CARLOS ALBERTO FRAGOSO DE SOUZA.

(57) **Resumo:** PROCESSO E PRODUTO DE OBTENÇÃO DE UM INOCULANTE À BASE DE BIOCARVÃO DE TORTA DE SEMENTE DE GRAVIOLA E *Trichoderma aureoviride*. Esse invento descreve o processo de obtenção de um inoculante que reúne os benefícios conferidos supressão de doenças radiculares às culturas e ao solo pelo biocarvão de torta de sementes de graviola inoculado com o fungo *Trichoderma aureoviride*. O produto desenvolvido promove o reaproveitamento do resíduo gerado pela produção de biodiesel que geralmente são descartados no ambiente, tornando-o apto para a utilização na agricultura, destacando o aumento do pH, teores de fósforo e potássio, além de atividades enzimáticas como: β -glicosidase e urease. A associação desses dois componentes também garante ao produto desenvolvido atributos no manejo de doenças suprimindo entre 75% a 100% a ação dos patógenos diminuindo a severidade da doença causada por *Fusarium solani*, aumentando comprimento das raízes, diâmetro do colo, e massa fresca da parte aérea e radicular. O produto e seus benefícios oferecem a agricultura uma alternativa de manejo da podridão radicular causada por *Fusarium solani*, efetivando o reuso de resíduos descartados no ambiente assegurando a integridade ambiental. Esse invento é uma ferramenta para adquirir ganhos de produtividade, reduzir o uso de fertilizantes industriais e garantir (...).



“PROCESSO E PRODUTO DE OBTENÇÃO DE UM INOCULANTE À BASE DE BIOCARVÃO DE TORTA DE SEMENTES DE GRAVIOLA E *Trichoderma aureoviride*”

Campo da invenção

[001] O presente pedido de patente de invenção descreve o processo de produção de um inoculante à base de biochar de torta de sementes de graviola com o fungo multifuncional *Trichoderma aureoviride* e seu potencial uso como ferramenta de controle de doenças radiculares. Esta patente situa-se no campo da biotecnologia aplicada à agricultura sustentável.

Fundamentos da invenção

[002] A agricultura intensiva trouxe riscos alarmantes a segurança alimentar e ambiental, ao solo, plantas e aos animais. Por isso, a busca por novas tecnologias sustentáveis vem ganhando mais espaço. Para evitar o uso indiscriminado de insumos químicos propõe-se uma nova ferramenta de manejo de doença de plantas pelo uso de duas frentes de ação, uma de forma direta, com a utilização de micro-organismos já utilizado no manejo biológico, mas com um novo veículo de inoculação, o biochar, que melhora a qualidade do solo, agindo de forma indireta nos mecanismos de resistência das plantas.

[003] Diante dessa perspectiva, torna-se cada vez mais necessário o desenvolvimento de tecnologias que possibilitem uma agricultura sustentável com o menor impacto possível aos recursos naturais. A aplicação de um inoculante proveniente de resíduos da agro-indústria transformado em um produto mais resistente com características que incrementa a qualidade do solo e ambiental, como o biochar e o uso de micro-organismos biocontroladores no solo é uma excelente tecnologia para reduzir a aplicação de produtos químicos e os danos ao meio ambiente, além de garantir a produção de alimentos (Tender et al. Appl. Soil Ecol. 107: 1-12, 2016; Khan e Mohiddin. In: Crop Imp. Thro. Micro. Bio. 263-291, 2018).

[004] A biotecnologia é um grande ramo da ciência que tem desenvolvido técnicas de utilização de micro-organismos com diversas finalidades, como na produção de alimentos, medicamentos e no controle de doenças em plantas e animais. São diversos os micro-organismos utilizados na agricultura, dentre esses estão os biocontroladores

como é caso do gênero *Trichoderma*, que são fungos multifacetados amplamente utilizado como ferramenta de controle biológico de doenças de plantas (Feng et al. Plant Soil. 388 (1-2): 337-350, 2015).

[005] Os fungos do gênero *Trichoderma* são amplamente utilizados na produção agrícola devido aos benefícios que proporcionam ao solo, e a sanidade e nutrição de plantas. A estes são atribuídas à capacidade de colonizar a rizosfera, produzir hormônios que proporcionam o crescimento e conferir maior defesa as plantas, solubilizar nutrientes do solo e antagonismo à fitopatógenos, sendo uma ótima ferramenta na redução do uso de produtos químicos (Khan e Mohiddin. In: Crop Imp. Thro. Micro. Bio. 263-291, 2018). É um grupo de fungos filamentosos, oportunista, de vida livre, com alta produção de esporos e fácil produção, atuam como antagonistas de diversos patógenos por meio dos mecanismos de parasitismo, indução de resistência da planta e produção de enzimas que degradam a parede celular de fungos fitopatogênicos (Abdelrahman et al. Plant Sci. 246: 128-138, 2016). Além disso, eles proporcionam melhora na qualidade do solo em termos de fertilidade e microbiota, promovendo melhor desenvolvimento da planta (Mesquita et al. ACSA, 13(1): 1-4, 2017).

[006] Outra tecnologia bastante viável é a aplicação de biochar ao solo na forma de veículo de inoculação, com vista a proporcionar benefícios aos solos e ao desenvolvimento e defesa das plantas. O biochar também conhecido como biocarvão teve sua origem devido à alta fertilidade da “Terra preta dos índios”, trata-se de um composto sólido, poroso, de coloração escura, rico em carbono, de fácil produção e baixo custo, produzido a partir de materiais orgânicos em temperaturas altas e presença limitada de oxigênio (Lehmann et al. Soil Biol. Biochem. 43(9): 1812-1836, 2011). Diversos benefícios são atribuídos ao uso do biochar diante das propriedades físico-químicas que este possui e que lhe conferem a capacidade de: proporcionar micro-habitat ideal para micro-organismos benéficos, corrigir e melhorar a fertilidade do solo, aumentar a retenção de água no solo, sequestrar carbono, estimular a microbiota

e reduzir o impacto ambiental por meio da utilização de resíduos agroindustriais (Foster et al. Agric. Ecosyst. Environ. 233: 404-414, 2016). Além disso, o mesmo pode ser obtido através de diferentes resíduos orgânicos, como palha de arroz, madeira, estrumes de origem bovina, suína e avícola (Burell et al. Geoderma. 282: 96-102, 2016).

[007] Diante disso, ainda existe uma lacuna a respeito do uso do Biochar como veículo de inoculação de micro-organismos de controle biológico de doenças radiculares de plantas cultivadas. Logo, a presente patente teve como objetivo avaliar os efeitos do inoculante à base de biochar produzido a partir de torta de graviola com *Trichoderma aureoviride*, no controle de doenças, desenvolvimento de plantas e melhora da qualidade do solo, com perspectivas de utilização em diferentes aspectos na produção agrícola.

[008] Dentre os documentos relacionados ao biochar encontrados nos bancos de patentes, grande parte diz respeito aos processos de produção e funcionamento dos equipamentos para a sua produção, assim como o seu emprego no feitiço de fertilizantes organominerais. Como nos seguintes documentos:

[009] O documento US2012168297A1, por exemplo, descreve métodos e equipamentos de produção de biochar, está, que descreve um aparelho de pirólise associado a uma câmara de combustão com alta temperatura e baixa combustão oxidativa, com aquecedor e controle de extração do gás de pirólise garantido por meio de saídas de ar entre as extremidades de entrada de matéria prima e saída do biochar. O documento US2019315662A1 também descreve a criação de métodos e dispositivos para o processo de pirólise de biomassa, porém possibilita a formação de produto gasoso, líquido e sólido, de forma que o biochar obtido possa ser estável, inerte e/ou resistente à degradação.

[010] Já a presente invenção faz uso de um biochar obtido através de um forno que tem como semelhança ao descrito no documento US10527282B2, a presença de uma chaminé acoplável a tampa. Outro documento, BR1120160184246(A2), também apresenta semelhanças no processo de produção como o desta invenção, sendo

descrita pelas etapas de entrada da biomassa, seguido de progressivo aumento da temperatura, com presença limitada de oxigênio, posterior esfriamento do produto e coleta do biocarvão. No entanto, nosso processo diferencia-se pelo equipamento utilizado, o qual proporciona diferentes temperaturas (450 – 550 °C), obtendo um biocarvão com propriedades físico-químicas próprias.

[011] Alguns documentos são descritos como sendo fertilizante microbiano, biofertilizante e/ ou modificador de solo, quando se emprega a associação do biochar com micro-organismos, como o documento CN108083908(A), o qual descreve o método de preparação de um fertilizante microbiano onde o biocarvão é misturado a ácido maléico, nitrato de amônio e um agente microbiano misto composto por sacacromicetos, bactérias fotossintéticas, *Bacillus subtilis*, rizóbio, *Trichoderma viride* e bacilo, no intuito de reduzir a salinidade dos solos. Já o documento CN102660291(A), narra o método de preparo de um modificador de solo constituídos de 95-98% de biocarvão, sendo este produzido a partir da carbonização de resíduos agrícolas em baixa temperatura, e de 2-4% de agente probiótico, constituído de *Paenibacillus polymyxa*, cepas de *Trichoderma*, rizóbios, bactérias fixadoras de nitrogênio, solubilizantes de fosfato, potássicas, decompositoras de celulose, geradoras de antibióticos e fotossintéticas, após a mistura são realizadas a separação sólida e líquida, e a secagem para obter o agente probiótico. Entretanto, a presente invenção difere desse trabalho por realizar somente a espécie *Trichoderma aureoviride*, inoculada no biochar, além de não utilizar produtos químicos, que acarretam impacto ambiental.

[012] O documento BR1020180163680 descreve o processo de obtenção de um biofertilizante que une os benefícios de um biochar de casca de feijão com o fungo *Trichoderma aureoviride*, com a capacidade de aumentar o crescimento vegetativo das plantas e melhorar a qualidade do solo em aspectos como: saturação por bases, pH e capacidade de troca de cátions, além fomentar comunidades microbianas. A presente invenção faz uso da mesma espécie: *T. aureoviride*, porém com uma abordagem diferente em o biochar é utilizado como inoculante no intuito de atuar no combate de fitopatógenos. Além disso, a fonte de resíduo agroindustrial para a produção do biochar é diferente. Aqui é com a torta de graviola, amplamente obtida na indústria de biodiesel.

[013] Referente a utilização da espécie *Trichoderma aureoviride*, existem algumas patentes no mundo que a utilizam no controle de doenças. No entanto, não existe até o presente momento nenhuma que utilize biochar de torta de sementes de graviola como seu veículo de inoculação. A busca realizada no INPI (Instituto Nacional da Propriedade Industrial) retornou apenas um resultado onde se faz a utilização do *T. aureoviride*, a mesma faz uso de biochar à base de casca de feijão para a produção de um biofertilizante BR102018016368. Quando a busca é redirecionada apenas ao gênero *Trichoderma* obtém-se 39 resultados, dentre estes os principais direcionados ao controle biológico os seguintes pedidos: BR1020170073297 – descreve um “produto eficaz no controle biológico de vetores como *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*; BR1020170068102 – descreve o “uso da fração de baixo peso molecular do extrato bruto do fungo *Trichoderma* sp. como antiparasitário para protozoários intracelulares como *Leishmania amazonensis*, *Leishmania major*, *Leishmania braziliensis*, *Leishmania mexicana*, *Trypanossoma cruzi* e *Toxoplasma gondii*”; BR1020150330723 – descreve a “produção de um biofungicida sob a forma de pó seco, baseado nos conídios do fungo micoparasita do gênero *Trichoderma* spp.”; BR1020170209407 – descreve a “utilização de isolados de *Trichoderma* sp. e seus metabólitos, tolerantes as radiações solares UV-B e UV-A por uma e duas horas, na produção de biofungicida para controlar fitopatógenos”

[014] Outro registro encontrado é o BR1020120267918, que relata o processo de microencapsulação de uma suspensão de esporos da espécie *Trichoderma asperellum*, à base de alginato de sódio, utilizada no biocontrole de fitopatógenos do solo. Logo, o produto difere do nosso, no que diz respeito à espécie utilizada, a forma de preparação e aplicação, e dos benefícios de maior desenvolvimento da planta e melhora da qualidade do solo, proporcionados pela presente proposta, além se assemelhar a outros produtos de alto custo utilizados no controle de doenças.

[015] Foi realizada também uma busca na plataforma Especenet, dentre os resultados retornados, existe o registro CN109609417(A), que descreve a produção de um agente microbiano, caracterizado por conter *Shewanella putrefaciens*, *Geobacter*

metallireducens, *Trichoderma viride* e *Trichoderma harzianum* e uma bactéria protetora: *Bacillus subtilis*. Sua preparação consiste em misturar todos os agentes microbianos e fixá-los no biochar. Entretanto, esse registro não faz uso da espécie *T. aureoviride*, tampouco realiza os processos de inoculação e incubação realizados na presente invenção, além de utilizarem várias espécies, o que torna dispendioso o processo de produção. O registro CN105432381(A) também encontrado nesta plataforma descreve um método de prevenção e controle ao ataque de *Phytophthora* spp. em pimenta, o método consiste na aplicação de fertilizantes e uma mistura de *Trichoderma viride* com carvão ao solo antes do plantio da pimenteira. Entretanto, este não menciona o uso de *T. aureoviride* ou torta de graviola como matéria-prima para o carvão, como a presente invenção. Desta forma, nossa invenção propõe um produto único, muito menos oneroso, com baixo custo, alta eficiência, com amplo espectro de atuação e sem utilização de produtos que causam impactos ao meio ambiente.

[016] As buscas realizadas na plataforma Espacenet retornaram 151 registros em todo o mundo, que fazem o uso da estirpe *T. aureoviride*, com distintos métodos de processo e aplicação nos âmbitos da indústria alimentícia, farmacêutica e agrícola. A maior parte desses registros diz respeito à utilização desta estirpe na agricultura para o crescimento vegetal e antagonismo a certos fitopatógenos, porém nenhum desses faz menção à utilização do *T. aureoviride* associado ao biochar como inoculante. Além disso, a grande maioria desses registros, aparentemente, apresentam métodos de preparação mais complexos e onerosos, quando comparados ao nosso. Poucos ressaltam a elaboração de um produto de prático, de fácil produção, de baixo custo e sem impactos no solo e na água, o que aponta que o nosso produto é bastante competitivo aos atualmente disponíveis no mercado, devido a sua eficácia e sustentabilidade.

[017] Logo, as buscas realizadas nos levaram a concluir que o nosso produto apresenta características que o tornam único, devido à construção de um produto (inoculante) que une os benefícios de componentes (biochar e *T. aureoviride*) capazes não só de controlar os patógenos das plantas, como também beneficiar o seu

crescimento e a qualidade em geral do solo. Logo, o inoculante à base de biochar de torta de graviola e *T. aureoviride*, trata-se de um produto inovador com eficácia comprovada na agricultura, capaz de: a) controlar o ataque de fungos fitopatogênicos; b) aumentar o crescimento vegetativo; c) aumentar a taxa fotossintética das plantas (clorofila A e B); d) aumentar o pH de solos ácidos; e) e estimular a produção de enzimas do solo.

[018] Atualmente, encontra-se na plataforma do INPI e no mercado, o registro BR1120130176989(A2), o produto é denominado como HORTAS BIO-SUPER (BSVG), que descreve uma tecnologia capaz de aumentar a produtividade de algumas culturas vegetais. Esta tecnologia faz uso de biochar e micro-organismos eficientes, assim como o proposto pela presente invenção, no entanto, o BIO-SUPER também utiliza resíduos vegetais (palha de arroz e composto), porém também utiliza resíduos animais (adubo de galinhas), minerais naturais e biopolímeros, o que distingue significativamente o nosso produto com relação ao BIO-SUPER (BSVG).

[019] Os resultados do ensaio realizado com o nosso produto apontam grande eficácia não somente no controle de um fungo fitopatogênico, mas também no desenvolvimento vegetal e qualidade do solo, apenas com a combinação dos componentes (biochar e *T. aureoviride*) que formam o inoculante. Ao que nos parece, o nosso produto apresenta maior eficácia com o emprego de menos componentes bióticos e abióticos, com processo mais simples, aparentemente, com custo mais baixo, sem aplicação de produtos químicos e sem agredir o meio ambiente, como o proposto pelo BIO-SUPER (BSVG). O nosso produto propõe uma abordagem diferente de aplicação do biochar, como inoculante, porém abrange também, os benefícios proporcionados pelo BIO-SUPER (BSVG), assim como, também propõe a reutilização e aproveitamento de resíduos disponíveis para sua fabricação, se inserindo na área de agricultura sustentável. Entretanto, não fazemos a adição de qualquer produto químico, mineral ou biopolímeros, que venha a encarecer ou complexar o processo de produção do nosso produto. A torta de graviola utilizada na produção do inoculante é um resíduo muito abundante em regiões de produção de biodiesel, com baixo custo e que gera um

biochar com propriedades físico-químicas ideais para o estabelecimento e desenvolvimento de micro-organismos como o *T. aureoviride*.

[020] A combinação proposta na presente invenção une os benefícios de ambos os componentes (biochar e *T. aureoviride*) ocasionando em algo que não seria possível com os componentes em separado. Além da inibição da ação de fungos causadores de doenças, o biochar no solo atua como abrigo não só para o *T. aureoviride*, mas também para toda a comunidade microbiana benéfica às plantas, além de proporcionar melhora dos atributos físicos e químicos do solo, contribuindo para o desenvolvimento de práticas agrícolas sustentáveis e conservação do solo.

[021] Diante do que foi exposto, não foram encontrados em nenhuma das plataformas patentárias, registros referentes à utilização de biochar de torta de graviola para produção de um inoculante com *Trichoderma aureoviride*. Logo, a presente invenção trata-se de um produto exclusivo, propondo uma tecnologia inovadora a ser aplicada no biocontrole de fungos fitopatogênicos. Sendo uma ferramenta sustentável no combate a doenças que causam baixa produtividade.

[022] Algumas dezenas de trabalhos foram publicadas em todo o mundo ressaltando os benefícios da aplicação do biochar e de fungos do gênero *Trichoderma* spp., na melhora da qualidade do solo, no crescimento vegetal e na melhora da microbiota do solo, porém nenhum desses estudos relata a utilização do biochar como veículo de inoculação de *T. aureoviride* aplicado no controle de doenças causadas por patógenos do solo. Esta estirpe é bastante mencionada na literatura, dentre as finalidades se destacam: antagonismo a diversos fungos fitopatogênicos (Moïse et al. Int. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Res. 6: 115-126, 2018; Silva et al. J. Phytopathol. 164(11-12): 1003-1011, 2016) tendo também a habilidade de estimular a defesa de plantas (Silva et al. Phytoparasitica. 45(2): 219-225, 2017), através da capacidade de colonizar as raízes das plantas (Junges et al. Floresta Ambiente. 23(2): 237-244. 2016). Os benefícios proporcionados pela inoculação da estirpe *Trichoderma aureoviride* em solos podem ser mencionados, destacando: as suas habilidades de competir, através de mecanismos como parasitismo e produção de enzimas que degradam a parede

celular de fungos fitopatogênicos (Silva et al. J. Phytopathol. 164(11-12): 1003-1011, 2016; Oliveira. Dissertação (Mestrado) - UFU, 2020, 73p) realizar simbiose com plantas estimulando sua defesa (Abdelrahman et al. Plant Sci. 246: 128-138, 2016) promover o crescimento de plantas de alface (Moraes et al. Rev. Caatinga. 31(4): 860-870, 2018). Estudos que utilizam fungos do gênero *Trichoderma* são relatados: (Sánchez et al. Biol. Control. 135: 124-134, 2019; Ribeiro et al. Biomolecules. 9(12): 781, 2019; Soares et al. Rev. UninCor. 17(2): 1-7, 2019)

[023] O biochar quando aplicado no solo promove a elevação do pH inibindo o desenvolvimento de boa parte dos fungos fitopatogênicos (Silva et al. Biosci. J. 29 (6): 1823-1831, 2013). Além disso o biochar estimula a microbiota benéfica do solo através do condicionamento de um micro-habitat favorável, havendo maiores capacidade troca de cátions do solo (CTC) e disponibilidade imediata de nutrientes (Nie et al. Chemosphere. 200 (9): 274-282, 2018). Outros estudos destacam esses benefícios e outros mais proporcionados pela aplicação do biochar ao solo (Borchard et al. Sci. Total Environ. 651 (2): 2354-2364, 2019; Chen et al. Microb. Research. 231: 126373, 2020; Ferreira et al. Energy Convers. Manag. 153: 163-174, 2017).

[024] Avaliando a grande variedade de estudos na literatura, não foram encontrados relatos de um inoculante à base de biochar de torta de sementes de graviola com *T. aureoviride* que atue no controle de fitopatógenos, o que nos levou ao desenvolvimento da presente invenção. Este pode proporcionar maior produtividade das culturas por meio do combate a doenças causadas por fungos do solo, além do estímulo ao desenvolvimento vegetativo das plantas. Em vista disso, o inoculante produzido a partir da inoculação da estirpe *T. aureoviride* em biochar de torta de graviola é alvo da reivindicação no nosso produto.

Breve descrição dos desenhos

[025] A presente invenção refere-se ao desenvolvimento de um novo inoculante produzido a partir da combinação de biochar de torta de graviola e *T. aureoviride*, com a hipótese de que o biochar serviria como um excelente inoculante para o *T. aureoviride*, sendo capaz de controlar doenças causadas por fitopatógenos habitantes do solo. As vantagens de o produzir este inoculante são inúmeras, como fazer o reuso

de resíduos agroindustriais que, muitas vezes, são descartados no meio ambiente sem o devido cuidado. Porém, quando processado, proporciona maior produtividade das culturas, sendo facilmente empregado na agricultura sustentável, uma vez que melhora a qualidade dos solos e pode atuar no manejo sustentável de doenças de plantas.

[026] Neste sentido, a presente invenção pode ser mais bem compreendida nas seguintes figuras:

A Figura 1 apresenta o produto biocarvão obtido a partir de resíduo da indústria de biodiesel, após término do processo de pirólise lenta.

A Figura 2 apresenta o Inoculante de biochar e *Trichoderma aureoviride* durante o processo de incubação.

Descrição da invenção

[027] Este relatório descreve a obtenção de um produto que reduz o impacto da podridão radicular causada pelo fitopatógeno *Fusarium solani*, atuando também como promotor do crescimento vegetal, sendo produzido a partir da pirólise da torta de sementes de graviola, sendo homogeneizado por processo de separação física com poro de 2 mm, inoculado com a estirpe *Trichoderma aureoviride* e incubado. A presente invenção se situa no campo da biotecnologia aplicada a agricultura sustentável, visando o controle de doenças do solo por meio da combinação Biochar e *Trichoderma aureoviride*, da qual destaca-se: (a) a redução drástica da severidade causada por fitopatógenos; (b) maior crescimento e vigor das plantas; (c) maior taxa fotossintética com o aumento das clorofilas A e B; (c) elevação do pH do solo com consequente redução da acidez do solo (Al_3H); (d) e maior estímulo a microbiota do solo, dentre outros benefícios.

[028] O processo desta invenção consiste das seguintes etapas: (a) obtenção da torta de graviola; (b) processo de produção do biochar por meio de pirólise lenta e homogeneização por processo de separação física com poro preferencial de 2 mm; (c) inoculação com *T. aureoviride* e (d) o processo de incubação, como descrito abaixo.

[029] Os ensaios para a fabricação do presente produto foram realizados na cidade de Garanhuns, situada no Agreste de Pernambuco, onde há grande produção de biodiesel para o desenvolvimento de pesquisas e grande quantidade de resíduos (torta)

é gerada. A graviola (*Annona muricata*) é uma planta muito produzida na região, devido alto consumo do seu fruto, dentre as características que despertam interesse para sua utilização se destacam: (a) a alta produção em regiões de clima úmido e baixa altitude; (b) a grande quantidade de resíduos descartados pela indústria de biodiesel; (c) a sua importância econômica e social em todas as regiões do país. Além disso, a graviola possui uma polpa de sabor adocicado que agrada bastante o paladar do brasileiro, trata-se de um fruto rico em cálcio, fósforo, ferro e potássio. Suas sementes, a parte de interesse do presente produto, possui grande quantidade de óleo, por isso é bastante utilizada na produção de biodiesel, tem alto valor de magnésio e potássio em relação à polpa e apresenta ação antiparasitária, o que contribui para o nosso produto.

[030] O método de obtenção do biochar é caracterizado pelo processo de pirólise lenta da torta de sementes, toda a combustão dura em torno de 48 horas, em altas temperaturas (450 a 500 °C), com presença mínima de oxigênio, apresentando um rendimento em torno de 35%. O equipamento utilizado para a produção é um forno amplamente utilizado pelos tailandeses (Prakongkep et al. J. Plant Nut. Soil Sci. 178 (5): 732-740, 2015) que possui cilindro interno compreendido de 54,0 cm de altura e 29,5 cm de diâmetro onde o resíduo é colocado, posteriormente esse cilindro é acoplado em uma estrutura, sob a qual existe outro cilindro com 80 cm de altura e 59 cm de diâmetro onde o combustível, a lenha, é adicionado. Após a combustão completa, o biochar obtido passa pelo processo de separação física em poro de dois mm.

[031] O fungo *T. aureoviride* foi selecionado para o desenvolvimento do presente produto devido aos inúmeros relatos da literatura científica apontando o potencial dessa espécie, e de várias outras de seu gênero, em atuar como antagonista de fungos fitopatogênicos, promovendo o controle de doenças por meio de diversos mecanismos. Diversos estudos e registros de patentes apontam o uso de fungos do gênero *Trichoderma* spp. como potencial para o controle de doenças, síntese de produtos, condicionador do solo, promotor do crescimento vegetal, entre outras finalidades. No entanto, não foi encontrado nenhum registro de patente sobre a utilização do *T. aureoviride* inoculado em biochar de torta de sementes de graviola. 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 25 a 30 °C preferencialmente a 28 °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 Câmara de Neubauer (hemacitômetro) ao microscópio ótico, determinando-se a concentração ideal desses propágulos para a inoculação do biochar, que foi de cerca de 1500×10^6 propágulos mL⁻¹ em meio BDA. Após a contagem das colônias, a suspensão contendo *T. aureoviride* tem o seu pH ajustado para a faixa entre 6,0 a 6,5 com auxílio das soluções de NaOH ou HCL, ambas na concentração de 0,5 mol l⁻¹, a depender do pH original. Em seguida, a suspensão de *T. aureoviride* é inoculada no biochar, onde ocorre novo processo de incubação em BOD a aproximadamente 28 °C durante 15 dias para maior proliferação dos fungos. Para a obtenção do produto, a razão ideal entre a suspensão do fungo e massa de biochar é de 3:1 (Kg) de *T. aureoviride*, a razão ideal entre a suspensão do fungo e a massa de biochar foi de 50 mL da solução de *T. aureoviride* para cada 0,032 kg de biochar, obtendo-se assim o produto.

Exemplos de concretizações da invenção

[032] Após a obtenção do produto, um ensaio foi conduzido em casa de vegetação para se determinar a eficiência do inoculante no manejo da podridão radicular da mandioca, causada pelo patógeno *Fusarium solani* e seus efeitos sob a produção vegetal e a qualidade do solo. O ensaio foi realizado com a cultura da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), variedade Sambaqui. Os resultados revelaram que o inoculante é de grande eficiência no controle da podridão radicular, apresentando redução de mais de 50% da severidade da doença quando comparado ao tratamento controle, com a ausência do inocuante. Neste ensaio 64 g do inoculante (fracionado em duas parcelas) foram aplicados em 4 Kg de solo, sendo suficiente para suprimir em mais de 75% a ação dos patógenos, onde também foram observados 100% de eficiência em algumas parcelas ao final dos 120 dias do experimento. Esses resultados decorrem da atuação

do *Trichoderma* spp. como parasita e produtor de enzimas que degradam a parede celular de fungos fitopatogênicos. Além disso, o biochar proporciona micro-habitat ideal para o desenvolvimento do *T. aureoviride* e incrementa a matéria orgânica, promovendo além da supressão do patógeno uma maior resistência das plantas ao ataque do *F. solani*, quando estas estão bem nutridas, o que comprova a sua excelência como inoculante.

[033] Esses resultados apontam que o nosso produto é excelente no controle de doenças causadas por fitopatógenos, proporcionando uma drástica redução na severidade tanto da parte aérea como do sistema radicular das plantas. Nosso inoculante também se mostrou capaz de incrementar os atributos fisiológicos e bioquímicos das plantas, além dos atributos químicos e biológicos do solo, contribuindo assim para a sua qualidade.

[034] No referente ao crescimento e desenvolvimento das plantas, o nosso produto contribuiu para o incremento dos seguintes atributos: (a) altura; (b) diâmetro do colo; (c) e massa fresca da parte aérea e radicular; (d) comprimento das raízes. Com a aplicação do inoculante observou-se aumento de: 15% no comprimento da haste principal, de 20% no diâmetro do colmo, de 31,5% na massa fresca da parte aérea, mais de 20% na massa fresca das raízes, além de aumentar em 62% o crescimento das raízes, com relação ao tratamento controle. Outro atributo que merece destaque, é a taxa fotossintética que obteve aumento significativo com a aplicação do nosso produto, isto pode ser observado pelo aumento de 23,7% e 48% nas clorofilas A e B, respectivamente. Desse modo, o produto revela grande potencial para o desenvolvimento das plantas, possibilitando maior disponibilidade e solubilização de nutrientes, incremento de matéria orgânica no solo, ademais o *T. aureoviride* coloniza as raízes das plantas, desta forma nosso produto proporciona às plantas maior vigor e resistência ao ataque de fitopatógenos.

[035] O inoculante também proporcionou incrementos nos atributos químicos e microbiológicos do solo, aspecto em que pôde ser observado com o estímulo da produção das enzimas do solo: β -glicosidase, e urease. A quantificação da atividade da enzima β -glicosidase com a aplicação do inoculante foi de aproximadamente 49 μ g p-

Nitrofenol g^{-1} de solo h^{-1} , contra apenas 28 do tratamento controle (sem inoculante), sendo essa diferença estatisticamente significativa ao nível de 5%. Esta enzima está envolvida diretamente na degradação de componentes do C, estando sua principal função ligada à disponibilidade de nutrientes da matéria orgânica, o que explica em parte a alta disponibilidade dos nutrientes e o consequente melhor desenvolvimento da planta, quando a atividade desta, apresenta boa quantificação no solo. A atividade da enzima uréase também apresentou aumento com o uso do inoculante, que foi de 3 vezes maior que a encontrada em solos do tratamento controle. Esta enzima é extremamente resistente à perturbação do ambiente, porém bastante utilizada como indicadora de alterações no solo, sua atividade está diretamente relacionada ao ciclo do Nitrogênio, atuando na liberação de N inorgânico assimilado por micro-organismos e plantas. Logo, a boa quantificação da atividade dessas enzimas no solo sugere o favorecimento da microbiota benéfica à planta com consequente redução do ataque de patógenos.

[036] Além disso, o nosso inoculante apresentou aumento do pH e de nutrientes importantes do solo. Nosso produto em apenas 120 dias de ensaio elevou o pH do solo de 5 para 7, estando este pH próximo da faixa ideal de desenvolvimento da maioria das plantas (5,5 a 6,8), e principalmente proporciona maior disponibilidade de nutrientes para o crescimento das plantas. Isso ocorre porque o biochar é uma rica fonte de matéria orgânica, que estimula a comunidade microbiana, proporcionando melhor desenvolvimento de micro-organismos como o *T. aureoviride* que atuam na supressão de fitopatógenos. Outros aumentos também foram observados na quantificação dos seguintes elementos: (a) o teor de potássio foi em média de 1 mg kg^{-1} em solo sem o inoculante, contra 11 mg kg^{-1} com a presença; e (b) já o teor de fósforo em solo com inoculante foi em média de $0,012 \text{ mg kg}^{-1}$ contra $0,04 \text{ mg kg}^{-1}$ de solo somente com o patógeno. Logo, além das vantagens já mencionadas, o nosso produto se revela como um grande contribuinte da fertilidade do solo, além de contribuir para a nutrição das plantas, uma vez que o P e K são os nutrientes mais extraídos pelas plantas para produção de compostos essenciais ao seu desenvolvimento, proporcionando maior resistência a fitopatógenos do solo.

REIVINDICAÇÕES

1. “PROCESSO E PRODUTO DE OBTENÇÃO DE UM INOCULANTE À BASE DE BIOCARVÃO DE TORTA DE GRAVIOLA E *Trichoderma aureoviride*” **caracterizado por** um processo de obtenção de um inoculante a partir da pirolise lenta de torta de graviola sob alta temperatura, gerando um material poroso denominado biocarvão, seguido de homogeneização da granulometria do BIOCARVÃO, com posterior inoculação do fungo *Trichoderma aureoviride*, previamente cultivado em meio líquido aeróbico contendo carboidratos de fácil degradação.
2. “PROCESSO E PRODUTO DE OBTENÇÃO DE UM INOCULANTE À BASE DE BIOCARVÃO DE TORTA DE SEMENTES DE GRAVIOLA E *Trichoderma aureoviride*”, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado por** pirólise lenta da torta de sementes de graviola, com até 48 horas de combustão em temperatura variando de 450 a 500 °C.
3. “PROCESSO E PRODUTO DE OBTENÇÃO DE UM INOCULANTE À BASE DE BIOCARVÃO DE TORTA DE SEMENTES DE GRAVIOLA E *Trichoderma aureoviride*”, **caracterizado pela** homogeneização ocorrer por processo de separação física com poro preferencial de 2 mm.
4. “PROCESSO E PRODUTO DE OBTENÇÃO DE UM INOCULANTE À BASE DE BIOCARVÃO DE TORTA DE SEMENTES DE GRAVIOLA E *Trichoderma aureoviride*”, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado por** 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 INOCULANTE À BASE DE BIOCARVÃO DE TORTA DE SEMENTES DE GRAVIOLA E *Trichoderma aureoviride*”, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pela** inoculação do *Trichoderma aureoviride* no biocarvão ser preferencialmente na proporção de 3:1(L Kg⁻¹).
6. “PROCESSO E PRODUTO DE OBTENÇÃO DE UM INOCULANTE À BASE DE BIOCARVÃO DE TORTA DE SEMENTES DE GRAVIOLA E *Trichoderma aureoviride*”, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado por** um inoculante que pode ser usado na agricultura sustentável.

DESENHOS



Figura 1



Figura 2

RESUMO

“PROCESSO E PRODUTO DE OBTENÇÃO DE UM INOCULANTE À BASE DE BIOCARVÃO DE TORTA DE SEMENTES DE GRAVIOLA E *Trichoderma aureoviride*”

Esse invento descreve o processo de obtenção de um inoculante que reúne os benefícios conferidos supressão de doenças radiculares às culturas e ao solo pelo biocarvão de torta de sementes de graviola inoculado com o fungo *Trichoderma aureoviride*. O produto desenvolvido promove o reaproveitamento do resíduo gerado pela produção de biodiesel que geralmente são descartados no ambiente, tornando-o apto para a utilização na agricultura, destacando o aumento do pH, teores de fósforo e potássio, além de atividades enzimáticas como: β -glicosidase e urease. A associação desses dois componentes também garante ao produto desenvolvido atributos no manejo de doenças suprimindo entre 75% a 100% a ação dos patógenos diminuindo a severidade da doença causada por *Fusarium solani*, aumentando comprimento das raízes, diâmetro do colo, e massa fresca da parte aérea e radicular. O produto e seus benefícios oferecem a agricultura uma alternativa de manejo da podridão radicular causada por *Fusarium solani*, efetivando o reuso de resíduos descartados no ambiente assegurando a integridade ambiental. Esse invento é uma ferramenta para adquirir ganhos de produtividade, reduzir o uso de fertilizantes industriais e garantir ao produtor um método viável para o cultivo de alimentos utilizando uma tecnologia sustentável.