

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO RIO
GRANDE DO SUL
CAMPUS BENTO GONÇALVES

WILLIAN BERGONSI

**EXPERIÊNCIAS NA PRODUÇÃO DE FUNGICIDA MICROBIOLÓGICO A BASE
DE *TRICHODERMA***

BENTO GONÇALVES
2024

WILLIAN BERGONSI

**EXPERIÊNCIAS NA PRODUÇÃO DE FUNGICIDA MICROBIOLÓGICO A BASE
DE *TRICHODERMA***

Relatório de estágio curricular obrigatório, apresentado junto ao Curso de Bacharelado em Agronomia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, *Campus* Bento Gonçalves, como requisito parcial à obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Prof. Me. Luís Carlos Diel Rupp

Bento Gonçalves

2024

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus pela vida e por ter pessoas incríveis ao meu lado.

Agradeço ao meu orientador Me. Luís Carlos Diel Rupp por me auxiliar nesta etapa da minha graduação.

Agradeço o Prof. Dr. Marcus André Kurtz Almança e o Prof. Dr. Raul Matos Araújo por aceitarem o convite de compor a banca avaliadora.

Agradeço à empresa Beifiur Ltda.[®] por oferecer a oportunidade de estágio e por contribuir tecnicamente para minha formação, sem medir esforços.

Agradeço a minha namorada Luciana, por estar sempre ao meu lado em tudo, por sempre me auxiliar nas minhas coisas e por me ajudar nos dias mais difíceis. Obrigado por estar comigo sempre, Te amo!

A todos que de alguma forma ajudaram na caminhada para a confecção deste trabalho, meu muito obrigado!

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Embalagem de FortFunghi®	14
Figura 2 - Rótulo FortFunghi®	15
Figura 3 - Placas matriz de <i>Trichoderma asperelloides</i>	16
Figura 4 - Placa matriz de <i>Trichoderma asperelloides</i>	16
Figura 5 - Erlenmeyer com inóculo pronto	17
Figura 6 - Recipientes de 10 L em crescimento com injeção de ar	18
Figura 7 - Modelo de seladora utilizada na empresa.....	19
Figura 8 - Modelo de envasadora utilizada na empresa.....	19
Figura 9 - Autoclaves utilizadas para as embalagens de arroz	20
Figura 10 - Cabine de inoculação.....	21
Figura 11 - Corredor principal da biofábrica	21
Figura 12 - Sala de crescimento.....	22
Figura 13 - Arroz após o peneiramento.....	23
Figura 14 - Embalagem com esporo após o peneiramento.....	24
Figura 15 - Embalagem final do produto FT10®	25
Figura 16 - Câmara de fluxo laminar	27
Figura 17 - BOD (<i>biochemical oxygen demand</i>).....	27

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	6
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	8
2.1. CONTROLE BIOLÓGICO NA AGRICULTURA	8
2.2. O USO DO <i>TRICHODERMA</i> NA AGRICULTURA	10
3. ATIVIDADES REALIZADAS.....	14
3.1. PREPARAÇÃO DO INÓCULO	14
3.2. EMBALAGEM DO ARROZ.....	18
3.3. AUTOCLAVAGEM E RESFRIAMENTO	19
3.4. INOCULAÇÃO.....	20
3.5. OUTROS MANEJOS.....	22
3.6. PENEIRAMENTO.....	23
3.7. MISTURA FINAL E EMBALAMENTO	24
3.8. ANÁLISES.....	25
4. CONCLUSÃO	28
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	29
APÊNDICE A – Fluxograma das atividades realizadas	33

1. INTRODUÇÃO

O uso de agrotóxicos é muito presente na agricultura atual pela sua efetividade no controle de plantas daninhas, doenças e pragas. O uso deste produto é simplificado, exigindo pouco conhecimento em agroecossistemas, fisiologia das culturas, interações microbiológicas, entre outros assuntos. Como consequência desta facilidade, atualmente temos diversas espécies de plantas invasoras, pragas e doenças com resistência a várias substâncias presentes no mercado (MORANDI e BETTIOL, 2009; BETTIOL e GHINI, 2003).

Observando a condição atual, os produtos biológicos à base de fungos, bactérias, entre outros microrganismos, estão ganhando cada vez mais espaço no mercado, decorrente de seus benefícios, no combate de doenças e pragas, não afetando o ambiente e nem a saúde do produtor. Seu uso demanda de um entendimento maior sobre as condições de sobrevivência destes organismos, ecologia das culturas, a saúde das plantas e do solo, além da interação dos microrganismos presentes no ambiente e a atuação dos que serão aplicados (BETTIOL, 2008).

Os fungos do gênero *Trichoderma* apresenta alta capacidade de colonizar tipos diversos de substratos e em diferentes ambientes, pois apresenta um sistema celular com grande poder de reparação. Auxilia como promotor de crescimento e germinação das plantas, combate outros fungos fitopatogênicos, além de estimular a defesa da planta contra ataques de patógenos e aguentar melhor ambientes com estresse (HERMOSA *et al.*, 2013; PEREIRA e NETO, 2024).

O estágio foi realizado na empresa Beifiur Ltda.[®], no setor Beifort[®] que é uma marca do grupo Beigrupo Ltda.[®]. A marca Beifort[®] é especialista em fertilizantes e produção de insumos biológicos. Atualmente a empresa possui duas biofábricas, uma voltada somente para fungos, com foco principal o *Trichoderma asperelloides* sendo o produto comercial Beifort FT10[®] e outra para a produção de bactérias de uso agrícola com diferentes *Bacillus* e entre outros microrganismos.

O estágio foi realizado do dia 10/06/2024 a 30/08/2024, totalizando 360 horas. Este ocorreu na produção de *Trichoderma asperelloides*, participando de todos os

processos até o produto final, além de executar análises de qualidade, pureza e concentração durante a produção. O estágio foi supervisionado pela Engenheira Agrônoma da empresa, Bianca Luzardo Porto e sob orientação do professor Me. Luís Carlos Diel Rupp. O presente relatório busca apresentar as principais atividades desenvolvidas e experiências adquiridas durante a vigência do estágio obrigatório.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. CONTROLE BIOLÓGICO NA AGRICULTURA

O controle biológico pode ser explicado como um controle onde a praga ou doença causadora de dano é reduzida ou eliminada por produtos produzidos a partir de enzimas, extratos, microrganismos, metabólitos secundários e feromônios. Este controle é o aproveitamento de mecanismos naturais de certos seres vivos para o controle de pragas agrícolas, através da ação humana (aplicação) (GONÇALVES, 1996; FRANZ e KRIEG, 1976; PEREIRA e NETO, 2024).

O controle biológico é empregado há muitos anos, onde há relatos do começo do século XVIII, tendo como o primeiro caso de sucesso a introdução na Califórnia da joaninha *Rodolia cardinalis* vinda da Austrália, para o controle do pulgão branco dos citros *Icerya purchasi*. Outro exemplo foi a introdução de um pássaro da Índia na Mauritânia para o controle do gafanhoto vermelho. Pode-se perceber que a anos o controle biológico vem se desenvolvendo para chegar em patamares mundiais e buscando uma eficiência equivalente à dos manejos convencionais (GONÇALVES, 1996; GALLO, 1978; MOUTIA e MAMET, 1946).

O mercado atual de produtos biológicos vem em grande crescente, devido à uma grande evolução em pesquisas e produtos, além de uma maior pressão dos próprios consumidores que buscam produtos mais saudáveis e que não causam danos ao meio ambiente. Quando falamos em bioinsumos agrícolas, entende-se como a junção de produtos de controle de pragas e doenças, inoculantes, bioestimulantes e solubilizadores (CROPLIFE BRASIL, 2024; MORANDI e BETTIOL, 2009).

O mercado global de bioinsumos agrícolas foi avaliado em 2023 entre US\$13 e US\$15 bilhões, com perspectivas de crescimento até 2032 entre 13% e 14%, totalizando US\$45 bilhões. Dentre os produtos que compõem os bioinsumos, a parte mais representativa deste valor são os produtos para controle biológico, que totalizam 57% do valor de mercado (AGRIVALLE, 2023; CROPLIFE BRASIL, 2024).

No Brasil, o crescimento no uso de bioinsumos foi de 15% na safra 2023/2024, totalizando R\$5 bilhões. Nas últimas três safras, o Brasil teve um crescimento médio de 21% ao ano no mercado de bioinsumos, uma média quatro vezes maior que

a global. O uso de bioinsumos foi mais presente nas culturas da soja (55%), milho (27%), cana-de-açúcar (12%) e para algodão, café, citros e hortifruti (6%). O Brasil é líder em pesquisas sobre fungos do gênero *Trichoderma*, usados no manejo de doenças e promotor de crescimento, além de ser o país que mais utiliza estes microrganismos nas suas culturas comerciais (CROPLIFE BRASIL, 2024; CARVALHO *et al.*, 2014; LOPES *et al.*, 2012; POMELLA e RIBEIRO, 2009).

Este crescimento acontece pois o controle biológico anda aliado a grandes investimentos em pesquisas e desenvolvimento de produtos, além da inserção destes bioinsumos em grandes culturas como a soja e o milho. Com o aumento do manejo integrado de pragas e doenças, estes produtos estão ganhando espaço nos mercados nacional e mundial. Outro ponto muito importante é que os agricultores estão buscando manejos alternativos aos químicos, visto que estes estão com sua eficiência comprometida em alguns casos devido à resistência desenvolvida por pragas e doenças (MORANDI e BETTIOL, 2009).

O mercado atualmente também é um grande responsável por este aumento no uso de bioinsumos, pois este é e será cada vez mais exigente quando falamos em produtos livres de substâncias químicas, que não prejudicam o meio ambiente e que não causam efeitos à saúde humana (LOMBARDI, MOORI e SATO, 2004; SEBRAE, 2023). Assim, a demanda de produtos orgânicos ou com manejos biológicos aumenta, deixando o produto final com um maior valor agregado, apresentando um maior retorno econômico para o produtor (CAMPANHOLA e BETTIOL, 2003).

Os bioinsumos apresentam uma enorme responsabilidade no Brasil, pois são usados em *commodities* que ocupam uma grande parte do nosso país. O uso desses produtos garante uma maior qualidade de vida dos funcionários e familiares que estão em contato com a cultura e com os insumos para sua produção. Os produtos biológicos são um passo importante para a produção de grandes quantidades sem causar interferências no ambiente onde a lavoura está inserida, não contaminando corpos hídricos (superficiais e subterrâneos), o solo e não interferindo na fauna e na flora do local (POMELLA e RIBEIRO, 2009).

O produtor, com o uso destes produtos, pode encontrar no final da safra um mercado mais lucrativo, visto a maior demanda e a disponibilidade do consumidor final de pagar mais caro nesta mercadoria mais saudável. Outro ponto é que o uso de bioinsumos em uma propriedade pode ser de 100%, onde esta pode buscar um selo de produto orgânico, ou então, há também o uso de manejos integrados ou o uso de

químicos de forma mais consciente. O manejo integrado busca reunir diferentes técnicas como o manejo cultural, físico, mecânico, entre outros, para o controle de pragas e doenças. Enquanto que o outro modo é a inserção de produtos biológicos intercalados com produtos químicos, diminuindo o uso e obtendo resultados semelhantes (LOPES, 2009).

O uso dos bioinsumos além de apresentarem grandes resultados e de forma mais ecológica, mostram outros benefícios no seu uso. Com a aplicação de microrganismos no controle de pragas e doenças por exemplo, estamos enriquecendo o ambiente, e os microrganismos ficam nos restos culturais que são passados para o solo, aumentando a saúde do solo, enriquecendo e diversificando a microbiota, tendo um volume mais elevado de atividades nele e deixando benefícios para as culturas que serão implantadas nestas áreas (KLABIN, 2024).

2.2. O USO DO *TRICHODERMA* NA AGRICULTURA

Os fungos do gênero *Trichoderma* são pertencentes a classe Sordariomycetes do filo Ascomycota, característicos pela formação de corpos de frutificação classificados como peritécio, formados em estromas com colorações que podem variar em tons de verde, marrom, creme ou amarelo, produzidos sobre o substrato que está sendo colonizado. Na sua fase assexuada, formam-se conidióforos a partir do micélio vegetativo, estes apresentam um eixo central com ramificações que possuem células conidiogênicas do tipo fiálide e na ponta das fiáldes, são produzidos os conídios no formato esférico, oval ou alongado e na coloração verde em sua grande maioria (JAKLITSCH, 2009; JAKLITSCH e VOGLMAYR, 2015; MEYER, MAZARO e SILVA, 2019).

As espécies do gênero *Trichoderma* podem ser encontradas em madeiras em decomposição ou colonizando outros fungos, além de estarem na matéria orgânica do solo e na rizosfera das plantas. Atualmente mais de 250 espécies de *Trichoderma* são registradas e grande parte destas não habitam o solo e são de distribuição geográfica restrita. Sua capacidade de se alimentar de matéria morta e parasitar outros fungos é perpetuada desde os ancestrais do gênero e presente em grande parte das espécies atuais (KUBICEK *et al.*, 2011; DRUZHININA *et al.*, 2011; MEYER, MAZARO e SILVA, 2019; SANTOS, 2022).

As espécies que habitam o solo são chamadas de oportunistas ambientais, pois apresentam grande adaptabilidade às condições adversas e a competição no solo e

na rizosfera das plantas, além de estarem distribuídas pelo mundo inteiro. Suas características mais importantes são o rápido crescimento e grande agressividade, aumentando sua população rapidamente no solo e parasitando outros fungos presentes no ambiente. Esse comportamento de ação rápida do *Trichoderma* gera interações benéficas com as plantas do ambiente, como promoção de crescimento, diminuição de incidência de fungos fitopatogênicos, indução de resistência a estresses, entre outras. O *Trichoderma* possui três principais modos de ação: micoparasitismo, antibiose e diferentes interações no solo (HARMAN *et al.*, 2004; DRUZHININA *et al.*, 2011; SANTOS, 2022).

O micoparasitismo envolve uma simbiose antagônica, onde enzimas extracelulares, como quitinases e celulasas, decompõem as paredes celulares de fungos parasitados. Inicialmente há a identificação do patógeno, onde o *Trichoderma* direciona suas hifas em resposta ao estímulo químico emitido pelo hospedeiro e em seguida utiliza as interações lectina-carboidrato para diferenciar patógenos específicos, facilitando a ação dirigida a cada organismo (INFANTE *et al.*, 2009; CARSOLO *et al.*, 1999; CHET e INBAR, 1994; WEINDLING e FAWCETT, 1934).

Após, as hifas de *Trichoderma* aderem às do hospedeiro, formando estruturas como ganchos que se enrolam em torno do patógeno, auxiliando na penetração. Esse processo é mediado por enzimas líticas, que degradam a parede celular do patógeno, permitindo a invasão das hifas do fungo antagonista. Essas enzimas são essenciais para combater fungos fitopatogênicos com estruturas de resistência mais complexas, pois atacam componentes estruturais como quitina e celulose. Assim, o micoparasitismo desempenha um papel crucial no controle biológico, promovendo uma abordagem natural para o manejo de fitopatógenos (PÉREZ, 2004; LIMA *et al.*, 2000; MARTÍNEZ, FERNÁNDEZ e SOLANO, 1994; SANZ *et al.*, 2004).

Outro mecanismo importante de *Trichoderma* é a antibiose, caracterizada pela produção de antibióticos ou metabólitos tóxicos que inibem o crescimento de outros microrganismos, auxiliando na defesa da planta contra patógenos e doenças. Esses antibióticos apresentam efeito essencialmente fungistático, enfraquecendo o patógeno e potencializando a ação dos compostos não voláteis (VERO e MONDINO, 1999; DENNIS e WEBSTER, 1971; INFANTE, 2009; HERMOSA *et al.*, 2013; TIJERINO *et al.*, 2011).

A produção de antibióticos pelo *Trichoderma* é complexa e pode variar entre cepas, algumas específicas para certos patógenos. Por exemplo, cepas que

produzem gliotoxina são eficazes contra a podridão radicular *Rhizoctonia solani*, enquanto aquelas que produzem gliovirina são mais eficazes contra a podridão radicular *Pythium ultimum*. Além disso, certas enzimas produzidas pelo *Trichoderma*, como a endoquitinase (Ech42), possuem dupla função, atuando tanto na degradação das paredes celulares de patógenos quanto como antibióticos diretos, inibindo a germinação de esporos e o crescimento de hifas de fungos fitopatogênicos. Dessa forma, a antibiose complementa o micoparasitismo, tornando o *Trichoderma* um agente de biocontrole altamente eficiente contra uma ampla variedade de patógenos (CARSOLIO, 1999; SAMUELS, 2006; MARTÍNEZ, 1994; MARRA *et al.*, 2019; MUKHERJEE, HORWITZ e KENERLEY, 2012).

As interações entre o *Trichoderma* e as plantas são fundamentais para promover resistência a estresses abióticos, como salinidade, seca e presença de metais pesados. Quando em contato com as raízes, o *Trichoderma* produz compostos que desencadeiam uma resistência sistêmica induzida, ativando genes de defesa e melhorando o metabolismo da planta. Esses compostos ajudam a planta a suportar condições adversas e sua produção depende do ambiente e da forma de aplicação do inóculo, como pela semente ou diretamente no solo (KASHYAP *et al.*, 2017; CONTRERAS-CORNEJO *et al.*, 2016; POMELLA e RIBEIRO, 2009).

Além de fortalecer a resistência das plantas, o *Trichoderma* modula o ecossistema ao seu redor, impactando a população de microrganismos e insetos na rizosfera. Essa influência cria uma dinâmica onde a presença do *Trichoderma* ajuda a equilibrar as interações entre microrganismos, plantas e insetos, promovendo a saúde do solo e o desenvolvimento sustentável das culturas. Dessa forma, o *Trichoderma* atua não apenas no controle direto de patógenos, mas também como um mediador ecológico, contribuindo para uma agricultura mais resiliente e sustentável (PEREIRA e NETO, 2024; BIERE e BENNETT, 2013; MACHADO *et al.*, 2012).

As aplicações adequadas de *Trichoderma* apresentaram grandes resultados, como mostram Baker, Elad e Chet *et al.* (1984), que descreveram um acréscimo no peso seco de folhas de rábano. Observou-se uma aceleração na germinação de sementes de pimentão e uma maior altura de plantas de pepino, juntamente com maior peso seco de planta em ambas culturas com o uso de *Trichoderma* (CHANG *et al.*, 1986).

O *Trichoderma* também age aumentando o crescimento da parte aérea das plantas e aumentando a profundidade de vigor das raízes, tendo uma maior eficiência

na absorção e solubilização de nutrientes. Aumenta o amido e açúcares presentes na planta, além de dar maior verdor das folhas e aumentar a eficácia fotossintética da planta (VINALE *et al.*, 2008; CONTRERAS-CORNEJO *et al.*, 2016; HARMAN, 2000; YEDIDIA *et al.*, 2001; SAMOLSKI *et al.*, 2012; SHORESH, HARMAN e MASTOURI, 2010).

Chagas *et al.* (2017) testaram a eficiência do *Trichoderma asperellum* como promotor de crescimento nas culturas da soja, feijão caupi, arroz e milho. O *Trichoderma* foi utilizado como inoculante em todas as culturas. Ao fim do experimento, observou-se um aumento de 60% da biomassa (massa seca da parte aérea, das raízes e total) quando comparado com a testemunha, mostrando um grande potencial de uso deste fungo como promotor de crescimento em grandes culturas.

3. ATIVIDADES REALIZADAS

A seguir serão descritas todas as atividades realizadas durante o período de estágio na empresa. O fluxograma destas está descrito em detalhe no Apêndice A.

3.1. PREPARAÇÃO DO INÓCULO

Todo o processo produtivo inicia com a preparação do inóculo que será utilizado na semana. A primeira etapa é a preparação do meio de cultura que será utilizado nos erlenmeyers. Para isso, usa-se o meio de cultivo pronto FortFunghi® produzido na própria empresa. Com todos os erlenmeyers preparados, estes são tampados e colocados para autoclavar, a 121 °C por 30-40 minutos. Após este processo, eles são retirados da autoclave e são reservados até o seu resfriamento.

Figura 1 - Embalagem de FortFunghi®



Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Figura 2 - Rótulo FortFunghi®

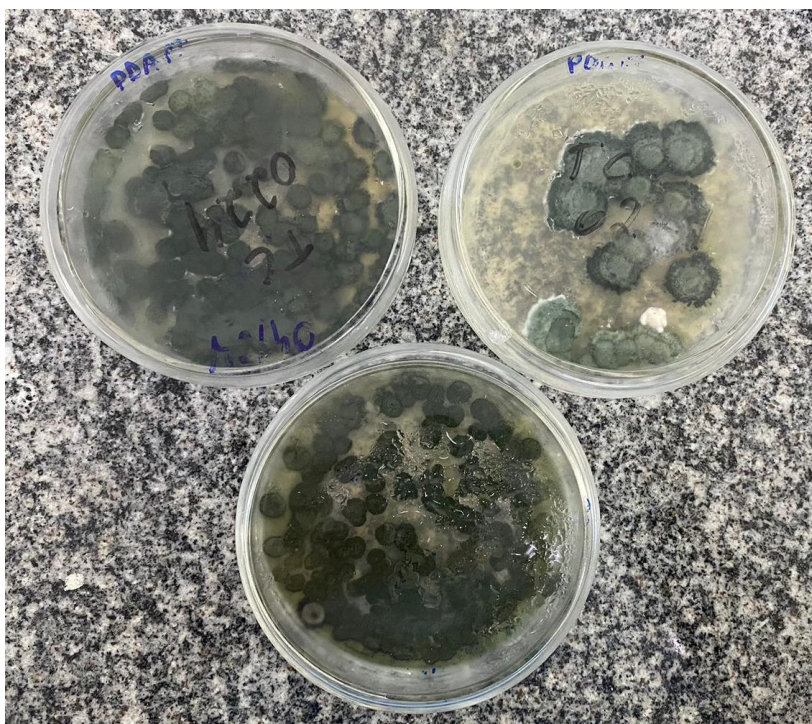


Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

A segunda etapa é a separação de todos os instrumentos que serão usados durante a inoculação, como alça de platina, os erlenmeyers esterilizados, etc. Passa-se álcool em todos os itens e todos são colocados dentro da câmara de fluxo laminar, mantendo-os na luz UV por 30 minutos.

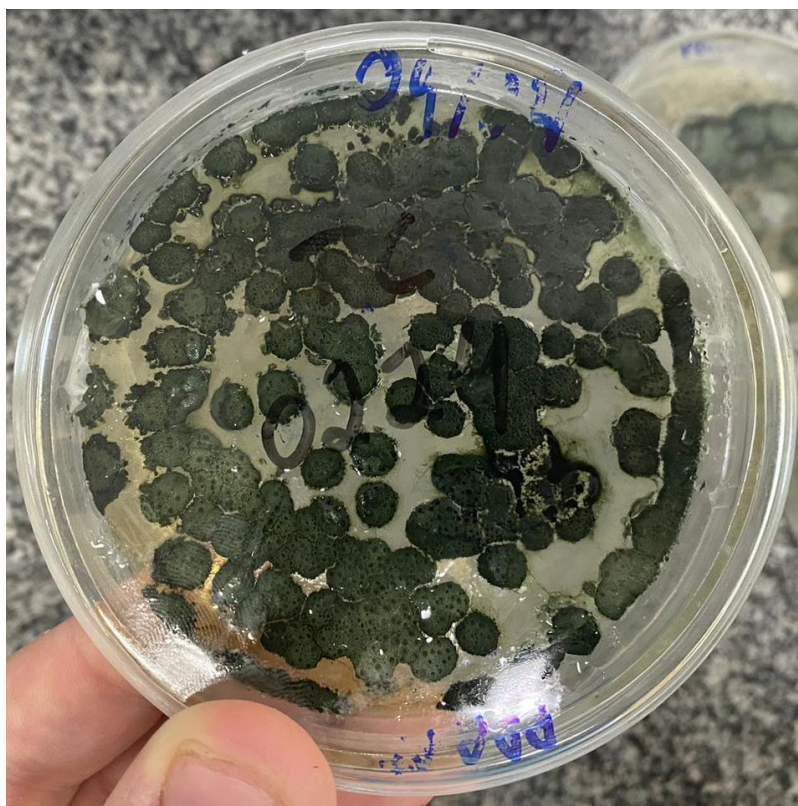
Com todos os itens previamente esterilizados, segue-se para a próxima etapa. É escolhida uma placa matriz para realizar a inoculação. Com o auxílio de uma alça de platina previamente flambada no bico de Bunsen, é retirada uma parte do *Trichoderma* da placa e transferido para o erlenmeyer, agitando bem a alça para garantir que todo material fique no meio. Após, o mesmo é fechado novamente e repete-se o processo para todos. Por fim, todos os erlenmeyers são colocados em uma incubadora *shaker* onde ficam aproximadamente 72 horas em temperatura e agitação constantes e controladas, para o crescimento do fungo.

Figura 3 - Placas matriz de *Trichoderma asperelloides*



Fonte: Rodrigo Gobatto (2024).

Figura 4 - Placa matriz de *Trichoderma asperelloides*



Fonte: Rodrigo Gobatto (2024).

Após as 72 horas, são feitas análises de pureza em todos os erlenmeyers. Caso houver algum com contaminação, este já é descartado imediatamente. Todos que passaram na análise de pureza, são armazenados em local refrigerado para manter sua concentração.

Em seguida, são preparados frascos de 10 L para aumentar a escala de produção de inóculo. Estes passam pelo mesmo processo, preparados com o meio de cultivo FortFunghi® e autoclavados a 121 °C por aproximadamente 40-50 minutos, passando por um resfriamento logo em seguida. A inoculação dos frascos é realizada dentro de uma sala previamente esterilizada, mantendo todas as condições assépticas. Utiliza-se os erlenmeyers previamente preparados para inocular, aumentando a escala de inóculo, indo de 400 mL para 10 L de inóculo pronto.

Figura 5 - Erlenmeyer com inóculo pronto



Fonte: Rodrigo Gobatto (2024).

Estes frascos ficam na sala com injeção de ar filtrado constante dentro deles, causando agitação e oxigenação do líquido, por aproximadamente 48 horas. Após este período, é realizada uma nova análise de pureza em todos os recipientes, utilizando novamente placas AN. Caso haja contaminação, o frasco é descartado.

Todos que estiverem puros são armazenados na câmara fria para o posterior uso durante a semana de trabalho.

Figura 6 - Recipientes de 10 L em crescimento com injeção de ar



Fonte: Rodrigo Gobatto (2024).

3.2. EMBALAGEM DO ARROZ

Todo o *Trichoderma* produzido na empresa é cultivado em grãos de arroz. Porém, como as quantidades de arroz compradas são grandes (paletes com sacos de 5 Kg), é necessário o fracionamento deste em sacos menores para a utilização durante o processo, facilitando o manuseio. Então, esta etapa é a primeira a ser realizada, onde é pesada uma quantidade específica de arroz e colocada dentro de um saco plástico, finalizando com a selagem deste com uma máquina apropriada e armazenando-os em caixas, criando um estoque para todas as produções da semana.

Figura 7 - Modelo de seladora utilizada na empresa



Fonte: Cetro Máquinas (2024).

3.3. AUTOCLAVAGEM E RESFRIAMENTO

Nos dias que são realizadas as inoculações, esta é feita no período da tarde, pois de manhã é necessário fazer todo o processo de autoclavagem do arroz, para garantir que nenhum contaminante interfira durante o crescimento do *Trichoderma*. Inicia-se colocando uma quantidade pré-determinada de água nos sacos com arroz que foram embalados previamente, esta etapa é feita com o auxílio de uma máquina envasadora.

Figura 8 - Modelo de envasadora utilizada na empresa



Fonte: Cetro Máquinas (2024).

Após adicionar água em toda a quantidade necessária de sacos, estes são colocados em autoclaves industriais, onde ficam a 121 °C por um período determinado. Durante este processo, ocorre um pré-cozimento do arroz, fazendo com que ele crie torrões após a autoclavagem. Assim, quando os sacos são retirados da autoclave, passam diretamente por uma máquina que auxilia no destorroamento. Os sacos são dispostos em caixas de maneira que facilite o resfriamento, que é realizado em salas climatizadas.

Figura 9 - Autoclaves utilizadas para as embalagens de arroz



Fonte: Rodrigo Gobatto (2024).

3.4. INOCULAÇÃO

Quando o arroz autoclavado estiver frio, ele é levado para a sala de inoculação. Utilizando os frascos previamente cultivados, é realizada a inoculação de todos as embalagens de arroz. Esta etapa é feita dentro da câmara de fluxo laminar, onde conecta-se uma envasadora diretamente no frasco com o inóculo e é colocado uma quantidade pré-estabelecida em cada embalagem de arroz.

Figura 10 - Cabine de inoculação

Fonte: Rodrigo Gobatto (2024).

Com a inoculação pronta, as embalagens passam por uma máquina com movimentos giratórios, fazendo com que o inóculo se espalhe por todo o arroz, deixando o seu crescimento mais homogêneo. Por fim, as embalagens são furadas para melhorar a aeração e dispostas em caixas, que são encaminhadas para uma sala de crescimento, que possui umidade, temperatura e luminosidade controladas. Todo o arroz inoculado fica nesta sala pelo período necessário para seu crescimento.

Figura 11 - Corredor principal da biofábrica

Fonte: Rodrigo Gobatto (2024).

Figura 12 - Sala de crescimento

Fonte: Rodrigo Gobatto (2024).

3.5. OUTROS MANEJOS

Durante o processo de crescimento do *Trichoderma*, é necessário realizar o revolvimento da embalagem com arroz, a fim de buscar maior crescimento e homogeneidade do fungo. Este manejo é feito na metade do crescimento e consiste em virar a embalagem, mexer para retirar os torrões e furar novamente para aumentar a eficiência da oxigenação. Em seguida as caixas são distribuídas normalmente na sala, onde ficam a outra metade do período de crescimento

Quando a etapa de crescimento se encerra, o arroz com o fungo já desenvolvido é colocado para secagem. Este processo consiste em abrir todas as embalagens e distribuir sob a superfície da caixa todo o arroz, espalhando-o com a utilização de ancinhos. Todo este arroz é encaminhado para uma sala de secagem, equipada com desumidificadores e ar condicionado, mantendo a umidade baixa e a temperatura controlada. Após alguns dias, este arroz está seco e pronto para ser encaminhado para a próxima etapa.

3.6. PENEIRAMENTO

O arroz seco é passado para a sala da peneira, onde é submetido a um processo que consiste em diferentes tipos de malhas e métodos de peneiramento, a fim de extrair o máximo conídios (esporos) do fungo que está presente no arroz. No final do processo, obtemos o pó (esporo puro), arroz em que o fungo estava crescendo e o resíduo (partículas maiores que o pó, mas menores que o grão de arroz). O pó fica separado em um compartimento específico, enquanto que o arroz já é encaminhado para bombonas, onde posteriormente são usados nas compostagens da empresa, e o resíduo é passado em outro conjunto de peneiras para extrair o máximo do pó presente nele.

Figura 13 - Arroz após o peneiramento



Fonte: Rodrigo Gobatto (2024).

Todo o esporo puro é depositado diretamente em um saco plástico que quando completo, é pesado e lacrado a vácuo em uma seladora específica e por fim, identificado com todas as informações importantes. Ao fim do peneiramento, todas as embalagens com esporos são encaminhadas diretamente para a câmara fria para melhor conservação.

Figura 14 - Embalagem com esporo após o peneiramento



Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

3.7. MISTURA FINAL E EMBALAMENTO

Quando há uma quantidade grande de esporos armazenada, é planejada a mistura do produto final. Esta mistura é realizada em local fechado e controlado, onde são adicionados vários ingredientes que auxiliam na durabilidade, solubilidade, entre outras características importantes para um produto comercial.

Após a mistura, o produto final é embalado a vácuo em embalagens específicas, com a quantidade de 1 Kg cada. Estas embalagens são colocadas em outra embalagem aluminizada identificada com o rótulo do produto, e em seguida é selada, onde fica pronta para ser comercializada. Quando necessário, pode-se realizar o fracionamento destes sacos de 1 Kg, pesando em embalagens menores de 1 g, 5 g, 10 g, etc.

Figura 15 - Embalagem final do produto FT10®



Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

3.8. ANÁLISES

Durante todo o processo de produção, são realizadas diversas análises com foco em manter os inóculos com total pureza, evitando que haja uma inoculação com outros microrganismos que não seja o *Trichoderma*. Dependendo da análise, são utilizados diferentes tipos de meio de cultura: AN (*agar nutrient*), propícia para o crescimento de bactérias e utilizada para ver se há contaminações e placas com BDA + T (batata dextrose agar e triton), utilizado para análises que buscam contar as colônias para saber a concentração do produto, onde a função do triton é limitar o crescimento destas colônias, facilitando sua visualização e contagem.

As análises realizadas são as seguintes: análise de pureza em todos os erlenmeyers já inoculados e no fim do crescimento, com placas AN. Após, realiza-se a mesma análise em todos os recipientes de 10 L inoculados com os erlenmeyers puros que passaram pela análise anterior.

A última análise feita na biofábrica é a do esporo após o peneiramento. Durante cada lote peneirado, é retirado uma amostra contendo 10 g e esta vai para análise de pureza e contagem, utilizando placas AN e BDA+T. O produto final FT10® garante

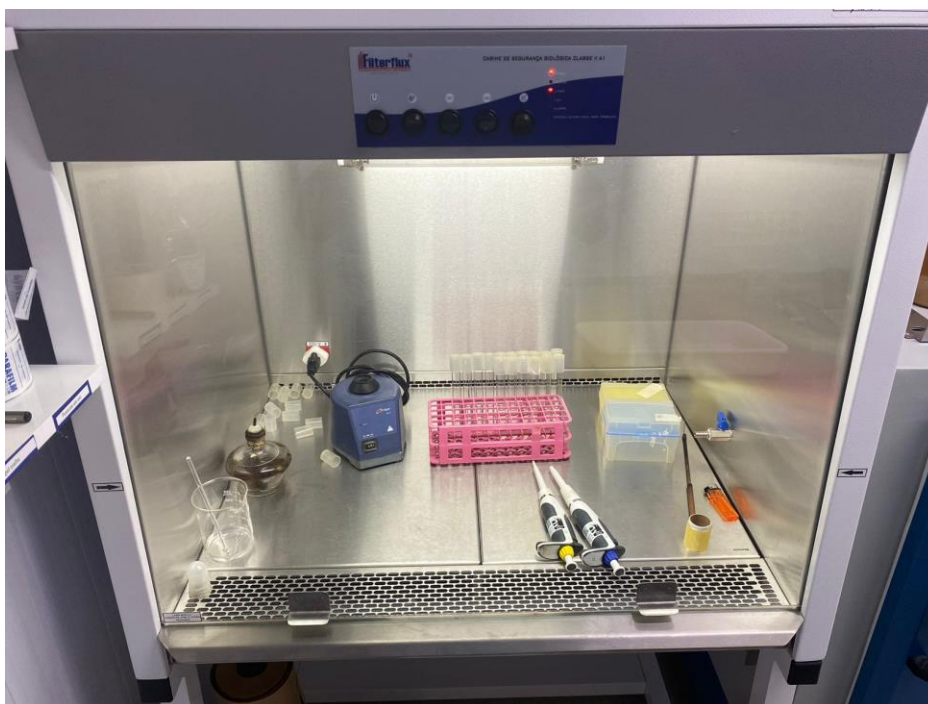
uma concentração de 1×10^{10} UFC/g. Após esta análise, o esporo está liberado para ser usado na mistura do produto final.

As análises de concentração citadas são feitas com a metodologia de diluição seriada, permitindo assim uma maior facilidade na hora da contagem das colônias de *Trichoderma*. Adiciona-se a amostra de 10 g retirada durante o peneiramento dentro de um erlenmeyer com 90 mL de solução salina (solução com NaCl e Tween 80), havendo assim uma primeira diluição de 10 vezes. Em seguida, agita-se bem toda a mistura e com o auxílio de um micropipetador, retira-se 1 mL da solução da primeira diluição e este é colocado em um tubo de salina contendo 9 mL, diluindo o conteúdo em 10 vezes. Em seguida, o tubo é agitado em um agitador de vórtex e retira-se novamente 1 mL deste tubo e transfere-se para o próximo tubo, diluindo mais 10 vezes, assim segue até a quantidade de diluições desejadas. Em sua maioria, as análises são feitas até a 8ª diluição. A mistura da amostra é realizada em um erlenmeyer visto que o esporo puro é menos solúvel em água, assim, em um recipiente maior há melhores condições de agitação e diluição do pó na solução salina.

Após todas as diluições, identifica-se as placas e retira-se 100 μ L da diluição escolhida, e coloca-se no centro da placa. Utilizando uma alça de Drigalski flambada, é feito o espalhamento de todo o líquido até o mesmo apresentar um aspecto seco. Após o período de crescimento, é realizada a contagem das UFC do *Trichoderma*. Conta-se a quantidade de colônias presentes na placa e este número é adicionado na seguinte fórmula: $(N^{\circ} \text{ de colônias} \times 10) \times \text{FD}$, onde FD = fator de diluição. Como exemplo utilizamos um total de 8 colônias encontradas na diluição 9, então, a fórmula ficaria a seguinte: $(8 \times 10) \times 1.000.000.000 = 8 \times 10^{10}$ UFC/g de produto. O FD é o número 1 acompanhado com os zeros equivalentes à diluição que foram contadas as colônias.

Nas análises de contaminação, as placas são identificadas e coloca-se 100 μ L do inóculo contido nos erlenmeyers e recipientes de 10 L no centro da placa e espalha-se com uma alça de Drigalski previamente flambada em um bico de Bunsen até o líquido ficar seco sobre o meio de cultura.

Todas as placas após a realização das metodologias, são colocadas dentro de uma incubadora BOD (*biochemical oxygen demand*), que mantém o ambiente em temperatura e umidade controladas, favorecendo o crescimento dos microrganismos presentes nela, e ficam por um período determinado até a sua contagem ser feita.

Figura 16 - Câmara de fluxo laminar

Fonte: Rodrigo Gobatto (2024).

Figura 17 - BOD (biochemical oxygen demand)

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

4. CONCLUSÃO

Os bioinsumos estão ganhando cada vez mais destaque no mercado visto sua importância em diferentes aspectos e as culturas produzidas com eles ganham maior valor agregado. O consumidor está impulsionando cada vez mais essa mudança, pois está disposto a pagar um valor maior por produtos que não prejudiquem a sua saúde e o ambiente.

Insumos biológicos apresentam uma grande eficiência no controle de pragas, doenças e outros problemas cada vez mais frequentes nas culturas comerciais. Além de sua grande aplicabilidade, apresenta uma segurança alimentar, não deixando substâncias residuais tóxicas no produto final, além de não prejudicar a saúde dos produtores e não interferir na fauna, flora, recursos hídricos, solo, entre outros aspectos do meio ambiente.

Devido à alta no mercado dos bioinsumos, sua produção está se especializando e escalando. Como apresentado neste relatório, a exigência de qualidade é grande durante todo o processo, além da preocupação em manter o produto puro para garantir a qualidade necessária para a aplicação no campo. Outro ponto importante é a garantia de concentração (UFC/g) do produto final e sua composição para manter sua vida de prateleira sem perder qualidade.

Com as tendências de mercado para estes produtos cada vez maiores, a produção será ainda maior, abrindo uma demanda de mão de obra qualificada para pessoas da área. Novas tecnologias estão surgindo para automatizar estes processos e garantir ainda mais qualidade e altas concentrações destes produtos.

Por fim, o período de estágio na empresa Beifiur Ltda.[®] foi de muito aprendizado e evolução na área de produção de *Trichoderma*. Conhecendo e participando de todo o processo produtivo, pude perceber a grande preocupação na qualidade, pureza e concentração do produto, a fim de entregar sempre o melhor para o produtor a campo. Entender a importância de cada etapa produtiva mostra que é necessário uma constância e excelência em cada uma para ter um produto consolidado no mercado de biológico.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIVALLE. Mercado de insumos biológicos - ascensão e otimismo. 2023. Disponível em: <<https://agrivalle.com.br/mercado-de-insumos-biologicos/>>. Acesso em: 29 out. 2024.

BAKER, R.; ELAD, Y.; CHET, I. The controlled experiment in the scientific method with special emphasis on biological control. **Phytopathology**, v.74, p. 1019-1021, 1984.

BETTIOL, Wagner; GHINI, Raquel. Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativos. In: CAMPANHOLA, C; BETTIOL, W. **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Jaguariúna: EMBRAPA, 2003. p. 79-95.

BETTIOL, Wagner. Conversão de sistemas de produção. In: POLTRONIERI, L. S.; ISHIDA, A. K. N. **Métodos alternativos de controle de insetos-praga, doenças e plantas daninhas: panorama atual e perspectivas**. Belém: EMBRAPA, 2008. p. 289-308.

BIERE, A.; BENNETT, A. Three-way interactions between plants, microbes and insects. **Functional Ecology**, Londres, v.27, 2013.

CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, Wagner. Controle biológico de pragas e outras técnicas alternativas. In: CAMPANHOLA, C; BETTIOL, W. **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Jaguariúna: EMBRAPA, 2009. p. 97-163.

CARSOLIO, C. *et al.* Role of the *Trichoderma harzianum* endochitinase gene, ech42, in mycoparasitism. **Appl Environ Microbiol**, Estados Unidos, 1999.

CARVALHO, D. D. *et al.* Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *phascoli* by *Trichoderma harzianum* and its use for common bean seed treatment. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v.39, p. 384-391, 2014.

CETRO MÁQUINAS. Disponível em: <<https://www.cetro.com.br/>>. Acesso em: 19 nov. 2024.

CHAGAS, L. F. B. *et al.* *Trichoderma* na promoção de crescimento vegetal. **Agricultura Neotropical**, Cassilândia, v.4, p. 97-102, 2017.

CHANG, Y. *et al.* Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. **Plant Disease**, Estados Unidos, v.70, p. 145-148, 1986.

CHET, I.; INBAR, J. Biological control of fungal pathogens. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.48, 1994.

CONTRERAS-CORNEJO, H. A. *et al.* Ecological functions of *Trichoderma spp.* and their secondary metabolites in the rhizosphere: interactions with plants. **FEMS Microbiology Ecology**, Oxford, 2016. CROPLIFE BRASIL. Mercado de bioinsumos cresceu 15% na safra 2023/2024. 2024. Disponível em: <<https://croplifebrasil.org/noticias/mercado-de-bioinsumos-cresceu-15-na-safra-2023-2024/>>. Acesso em: 29 out. 2024.

DENNIS, L.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. **Transactions of the British Mycological Society**, Reino Unido, v.57, 1971.

DRUZHININA, I. S. *et al.* *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. **Nature Reviews Microbiology**, Londres, v.9, p. 749, 2011.

FRANZ, J. M.; KRIEG, A. Biologische Schödlingsbekämpfung. In: HUFFAKER, C. B.; MESSENGER, P. S. **Theory and practice of biological control**. Califórnia: Academic Press, 1976. 188 p.

GALLO, D. *et al.* **Manual de entomologia agrícola**. São Paulo: Agr. Ceres, 1978. 531 p.

GONÇALVES, Lenício. Fatos históricos do controle biológico. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v.3, p. 96-101, 1996.

HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol: changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, Estados Unidos, v.84, p. 377-393, 2000.

HARMAN, G. E. *et al.* *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, Londres, v.2, p. 43, 2004.

HERMOSA, R. *et al.* The contribution of *Trichoderma* to balancing the costs of plant growth and defense. **International Microbiology**, Espanha, v.16, p. 69-80, 2013.

INFANTE, D. *et al.* Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. **Revista de Protección Vegetal**, Cuba, v.24, 2009.

JAKLITSCH, W. M. European species of Hypocrea Part I. The green-spored species. **Studies in Mycology**, Holanda, v.63, p. 1-91, 2009.

JAKLITSCH, W. M.; VOGLMAYR, H. Biodiversity of *Trichoderma* (*Hypocreaceae*) in Southern Europe and Macaronesia. **Studies in Mycology**, Holanda, v.80, p. 1-87, 2015.

KASHYAP, P. L. *et al.* *Trichoderma* for climate resilient agriculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.33, 2017.

KLABIN. O que são bioinsumos e quais suas vantagens para a agricultura. 2024. Disponível em: <<https://blog.klabin.com.br/-/bioinsumos>>. Acesso em: 03 nov. 2024.

KUBICEK, C. P. *et al.* Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. **Genome Biology**, Londres, v.12, 2011.

LIMA, L. H. C. *et al.* Enzimas hidrolíticas envolvidas no controle biológico por micoparasitismo. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle biológico**. Jaguariúna: EMBRAPA, 2000.

LOMBARDI, M. S.; MOORI, R. G.; SATO, G. S. Um estudo exploratório dos fatores relevantes na decisão de compra de produtos orgânicos. **Revista de Administração Mackenzie**, São Paulo, v. 5, p. 13-34, 2004.

LOPES, R. B. A indústria no controle biológico: produção e comercialização de microrganismos no Brasil. In: CAMPANHOLA, C; BETTIOL, W. **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Jaguariúna: EMBRAPA, 2009. p. 15-28.

LOPES, F. A. C. *et al.* Biochemical and metabolic profiles of *Trichoderma* strains isolated from common bean crops in the Brazilian Cerrado, and potential antagonism against *Sclerotinia sclerotiorum*. **Fungal Biology**, Londres, v.116, p. 815-824, 2012.

MACHADO, D. F. M. *et al.* *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v.35, p. 274-288, 2012.

MARRA, R. *et al.* Application of *Trichoderma* strains and metabolites enhances soybean productivity and nutrient content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.67, p. 1814-1822, 2019.

MARTÍNEZ, B.; FERNÁNDEZ, L.; SOLANO, T. Antagonismo de cepas de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos de la caña de azúcar, tomate y tabaco. **Cultivos tropicales**, Cuba, v.15, 1994.

MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. ***Trichoderma*: uso na agricultura**. Brasília: EMBRAPA, 2019. 538 p.

MORANDI, Marcelo A. B.; BETTIOL, Wagner. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. In: BETTIOL, Wagner; MORANDI, Marcelo A. B. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: EMBRAPA, 2009. p. 7-14.

MOUTIA, A. L.; MAMET, R. A. **A review of 25 years of economic entomology in the Island of Mauritius**. 1946.

MUKHERJEE, P. K.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M. Secondary metabolism in *Trichoderma* - a genomic perspective. **Microbiology**, v.158, p. 35-45, 2012.

PEREIRA, Mylena Assencio; NETO, Otavio Cabral. Revisão sobre o uso do *Trichoderma* na agricultura. **Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro**, Teófilo Otoni, v.3, p. 1-9, 2024.

PÉREZ, N. **Manejo ecológico de plagas**. Cuba: CEDAR, 2004. 296 p.

POMELLA, A. W. V.; RIBEIRO, R. T. S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas - uma visão empresarial. In: CAMPANHOLA, C; BETTIOL, W. **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Jaguariúna: EMBRAPA, 2009. p. 15-28.

SAMOLSKI, I. *et al.* The *qid74* gene from *Trichoderma harzianum* has a role in root architecture and plant biofertilization. **Microbiology**, v.158, p. 129-138, 2012.

SAMUELS, G. J. *Trichoderma*: systematics, the sexual state, and ecology. **Phytopathology**, v.96, p. 195-206, 2006.

SANTOS, A. C. N. ***Trichoderma spp.* para o controle biológico de fitopatógenos**. Rio Largo: Universidade Federal de Alagoas, 2022. 26p. Trabalho de Conclusão de Curso, Curso de Agronomia, 2022.

SANZ, L. *et al.* Cell wall-degrading isoenzyme profiles of *Trichoderma* biocontrol strains show correlation with rDNA taxonomic species. **Current Genetics**, Estados Unidos, v.46, p. 277-286, 2004.

SEBRAE - SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. O mercado para os produtos orgânicos está aquecido. 2023. Disponível em: <<https://sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-mercado-para-os-produtos-organicos-esta-aquecido,5f48897d3f94e410VgnVCM1000003b74010aRCRD>>. Acesso em: 11 nov. 2024.

SHORESH, M.; HARMAN, G. E.; MASTOURI, F. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. **Annual Review of Phytopathology**, Estados Unidos, v.48, p. 21-43, 2010.

TIJERINO, A. *et al.* Overexpression of the *Trichoderma brevicompactum tri5* gene: effect on the expression of the trichodermin biosynthetic genes and on tomato seedlings. **Toxins**, v.3, p. 1220-1232, 2011.

VERO, S. M.; MONDINO, P. Control biológico postcosecha en Uruguay. **Horticultura Internacional**, Espanha, v.7, 1999.

VINALE, F. *et al.* A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.72, p. 80-86, 2008.

WEINDLING, R.; FAWCETT, H. S. Experiments in biological control of Rhizoctonia Damping-off. **Phytopathology**, Estados Unidos, v.24, 1934.

YEDIDIA, I. *et al.* Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. **Plant and Soil**, v.235, p. 235-242, 2001.

APÊNDICE A – Fluxograma das atividades realizadas

