



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia



REAPROVEITAMENTO DO RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE ARROZ PARA CULTIVO MICROBIANO

Bianca Oliveira Pessa

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de MESTRE EM BIOTECNOLOGIA do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de São Carlos.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Cristiane Sanchez Farinas
*Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, UFSCar;
Embrapa Instrumentação, São Carlos – SP.*

**SÃO CARLOS, SP
2025**

BIANCA OLIVEIRA PESSA

**REAPROVEITAMENTO DO RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE ARROZ PARA
CULTIVO MICROBIANO**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de MESTRE EM BIOTECNOLOGIA do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de São Carlos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cristiane Sanchez Farinas

Banca Examinadora

*Prof^a. Dr^a. Cristiane Sanchez Farinas
Embrapa Instrumentação*

*Dra. Vanessa Molina de Vasconcellos.
Department of Environment and Occupational Health – Indiana University*

*Dr. Rodrigo Klaiç
Pesquisador – Simbiose AGRO*

**SÃO CARLOS, SP
2025**

Pessa, Bianca Oliveira

Reaproveitamento Do Resíduo Agroindustrial De Arroz
Para Cultivo Microbiano / Bianca Oliveira Pessa – 2025.
48f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São
Carlos, campus São Carlos, São Carlos
Orientador (a): Cristiane Sanchez Farinas
Banca Examinadora: Dra Cristiane Sanchez Farinas, Dra
Vanessa Molina de Vasconcellos, Dr Rodrigo Klaic
Bibliografia

1. Microbiologia Agrícola. 2. Cultivo em Estado Sólido .
3. Reuso de Resíduos. I. Pessa, Bianca Oliveira. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática
(SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Arildo Martins - CRB/8 7180



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Bianca Oliveira Pessa, realizada em 25/08/2025.

Comissão Julgadora:

Profa. Dra. Cristiane Sanchez Farinas (EMBRAPA)

Profa. Dra. Vanessa Molina de Vasconcellos (IU)

Prof. Dr. Rodrigo Klaic (Simbiose Agro)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBiotec), à Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) e à Embrapa Instrumentação, pelo apoio institucional, infraestrutura e equipamentos, essenciais para a realização deste trabalho.

À Dra. Cristiane e ao Dr. Cauê, pelos valiosos ensinamentos e pela orientação ao longo da minha formação enquanto pesquisadora.

À minha família, pelo apoio incondicional em todas as etapas da minha vida, e às minhas amigas, que me acompanham na vida adulta e compartilham comigo tanto os melhores quanto os mais difíceis momentos. Sou profundamente grata pelo amor, paciência e respeito que sempre me ofereceram. Sem vocês, nada disso seria possível.

Às minhas amigas que a vida acadêmica trouxe, obrigada por compartilharem comigo as delícias e os desafios da vida acadêmica com companheirismo e incentivo.

A todos os técnicos e analistas da Embrapa Instrumentação e da Embrapa Pecuária Sudeste, em especial, à Ana Cassales, analista do Laboratório de Bioprocessos e Bioprodutos, por toda a atenção, suporte técnico e paciência ao longo desta jornada.

Meus agradecimentos poderiam se estender por páginas e páginas, mas, sendo breve, deixo aqui o registro da minha profunda gratidão. O caminho até aqui foi construído ao longo de anos de esforço não apenas meu, mas, sobretudo, da minha mãe e da minha avó, que enfrentaram grandes dificuldades para me proporcionar tudo aquilo que não tiveram e para que eu pudesse estudar. Os estudos me abriram um mundo de possibilidades que minha avó, que mal concluiu o ensino fundamental, jamais poderia imaginar. O mérito de chegar até aqui jamais será somente meu.

Pessa, Bianca Oliveira. **Reaproveitamento De Resíduo Agroindustrial de Arroz Para Cultivo Microbiano**. 2025. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Biotecnologia) – UFSCar, São Carlos, 2025.

RESUMO

O controle biológico é uma alternativa promissora aos agroquímicos no manejo de pragas e doenças, pela crescente demanda por práticas agrícolas mais sustentáveis. Entre os microrganismos utilizados, destaca-se o fungo filamentoso *Trichoderma harzianum* por seu potencial no controle biológico e na promoção do crescimento vegetal, sendo cultivado em estado sólido (CES) com arroz como principal substrato. Ao final do processo de cultivo, esse arroz se torna um resíduo pouco utilizado e sem uso descrito. Este estudo avaliou a viabilidade de reprocessar esse material para reutilização em novos ciclos de cultivo. O arroz residual foi transformado em uma formulação prensável e utilizado como substrato para um novo ciclo de cultivo de *T. harzianum*. Foram avaliadas a produção de esporos, a viabilidade celular, as propriedades físico-químicas e a adição de bentonita de sódio como aditivo para aumentar a produtividade. Entre os principais resultados, a formulação do arroz residual com a adição de 2% de bentonita resultou em um rendimento máximo de $1,4 \times 10^9$ esporos/grama de substrato seco, atingindo níveis comparáveis ao arroz parboilizado fresco ($2,2 \times 10^9$ esporos/grama de substrato seco), mantendo também a viabilidade do microrganismo cultivado no resíduo. A análise elementar (CHN) revelou teores de carbono e nitrogênio semelhantes aos do arroz fresco, indicando que não há necessidade de suplementação nutricional. Os resultados demonstram que a reutilização do arroz cultivado é tecnicamente viável e representa uma alternativa eficaz para reduzir custos e aumentar a sustentabilidade na produção de biopesticidas à base de *Trichoderma*, além de contribuir para o uso de resíduos agroindustriais em biofábricas.

Palavras-chave: Biopesticidas, Fermentação em Estado Sólido, *Trichoderma harzianum*.

Pessa, Bianca Oliveira. **Reuse of Rice Agroindustrial Waste for Microbial Cultivation**. 2025. Dissertation (Postgraduate Program in Biotechnology) – UFSCar, São Carlos, 2025.

ABSTRACT

Biological control has emerged as a promising alternative to agrochemicals for pest and disease management, driven by the growing demand for more sustainable agricultural practices. Among the microorganisms employed, the filamentous fungus *Trichoderma harzianum* stands out for its potential in both biological control and plant growth promotion, typically cultivated in solid-state fermentation (SSF) using rice as the main substrate. At the end of the cultivation process, this rice becomes an underutilized residue with no established application. This study evaluated the feasibility of reprocessing this material for reuse in successive cultivation cycles. The residual rice was transformed into a pressable formulation and used as a substrate for a new cultivation cycle of *T. harzianum*. Spore production, cell viability, physicochemical properties, and the effect of sodium bentonite as an additive to enhance productivity were assessed. Among the main findings, the formulation of residual rice supplemented with 2% bentonite achieved a maximum yield of 1.4×10^9 spores per gram of dry substrate, a level comparable to fresh parboiled rice (2.2×10^9 spores per gram of dry substrate), while maintaining the viability of the microorganism cultivated on the residue. Elemental analysis (CHN) revealed carbon and nitrogen contents similar to those of fresh rice, indicating that additional nutritional supplementation was unnecessary. Overall, the results demonstrate that the reuse of cultivated rice is technically feasible and represents an effective strategy for reducing costs and enhancing sustainability in the production of *Trichoderma*-based biopesticides, while also contributing to the valorization of agro-industrial residues in biofactories.

Keywords: Biopesticides, Solid-state Fermentation, *Trichoderma harzianum*.

Lista de Figuras

- Figura 1.** Molde metálico (1.) utilizado para a obtenção das pastilhas, e representação dos três tamanhos produzidos com altura uniforme e variando o diâmetro.24
- Figura 2.** Frascos Erlenmeyer contendo pastilhas de arroz utilizadas como substrato sólido para o cultivo. Cada frasco contém aproximadamente 20g de pastilhas.26
- Figura 3.** Estrutura lamelar da montmorilonita presente na bentonita sódica. A hidratação de Na⁺ no espaço interlamelar promove o inchamento e aumenta a retenção de umidade no substrato.33
- Figura 4.** Aspecto das pastilhas após o cultivo de *Trichoderma harzianum*. (A) Pastilhas de resíduo contendo 2% de bentonita; (B) Pastilhas de resíduo sem aditivo.34
- Figura 5.** Micrografias de MEV da superfície do arroz parboilizado em diferentes resoluções.38
- Figura 6.** Micrografias de MEV da superfície do arroz reprocessado em diferentes resoluções.39
- Figura 7.** Ângulo de contato da pastilha de resíduo no instante inicial (A) e após 10 s (B). A redução do ângulo indica o comportamento hidrofílico da superfície.40

Sumário

1. Capítulo 1 – Introdução	11
1.1. Panorama geral da agricultura atual	11
1.2. Bioinsumos	12
1.2.1. Agentes de controle biológico	13
1.2.2. Produção Industrial dos Agentes de Controle Microbiológico	15
1.3. Gênero <i>Trichoderma</i> spp: mecanismos de ação para controle de fitopatógenos e promoção do crescimento vegetal	18
1.3.1. Micoparasitismo	18
1.3.2. Antibiose	18
1.3.3. Competição	19
1.3.4. Indução de Resistência em Plantas (IRS/SAR)	19
1.3.5. Promoção do Crescimento Vegetal.....	19
1.3.6. Principais Patógenos Controlados pelo Gênero <i>Trichoderma</i>	20
1.4. Justificativa	20
1.5. Objetivos	21
1.5.1. Objetivo Geral	21
1.5.2. Objetivos Específicos	22
2. Capítulo – 2 Materiais e Métodos	22
2.1. Materiais	22
2.2. Formulações contendo o arroz residual de <i>Trichoderma harzianum</i>	23
2.3. Processamento do arroz residual em diferentes tamanhos de molde	24
2.4. Cultivo de <i>Trichoderma</i> spp. e obtenção dos esporos para os experimentos de fermentação em estado sólido	25
2.5. Fermentação em Estado Sólido	25
2.6. Adição de bentonita como suporte inerte à fermentação em estado sólido	26
2.7. Extração dos esporos da fermentação em estado sólido.....	26
2.8. Equações	27

2.9.	Caracterizações	28
2.10.	Forma de análise dos resultados	29
3.	Capítulo 3 – Resultados e discussão.....	29
3.1.	Formulação das pastilhas de resíduo de arroz	30
3.2.	Teste da formulação do resíduo em diferentes tamanhos de molde	31
3.3.	Viabilidade do microrganismo cultivado no arroz recuperado.....	32
3.4.	Cultivo das pastilhas com bentonita como suporte na formulação	33
3.5.	Caracterizações do material	35
3.5.1.	Análise Elementar.....	36
3.5.2.	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	37
3.5.3.	Ângulo de Contato	39
3.5.4.	Resistência mecânica	41
4.	Capítulo 4 – Conclusões	42
5.	Referências Bibliográficas.....	43

1. Capítulo 1 – Introdução

Neste capítulo, apresenta-se o referencial teórico que permeou o desenvolvimento deste trabalho. Será abordado o panorama do mercado de agentes de controle biológico, a descrição e aplicação de microrganismos do gênero *Trichoderma* na agricultura, bem como a justificativa que permeia o trabalho.

1.1. Panorama geral da agricultura atual

A agricultura é o eixo central da segurança alimentar mundial e desempenha papel essencial na estabilidade econômica global. A intensificação da produtividade agrícola é um dos maiores desafios enfrentados atualmente. Segundo estimativas da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO, do inglês, *Food and Agriculture Organization*), será necessário aumentar a produção mundial de alimentos em, pelo menos, 60% até 2050 para atender à demanda alimentar. Esse desafio ocorre em um cenário marcado pela limitação de recursos naturais, mudanças climáticas e demanda por sistemas produtivos mais sustentáveis (*International Plant Protection Convention*, 2022; Asad, 2022).

O aumento da produtividade agrícola observado desde a segunda metade do século XX foi fortemente impulsionado pela Revolução Verde, caracterizada pela adoção de mecanização intensiva e, especialmente, pelo uso massivo de insumos químicos, como fertilizantes sintéticos e defensivos agrícolas. Embora essa estratégia tenha possibilitado avanços expressivos na produção, também estabeleceu um modelo agrícola altamente dependente desses insumos (Zambeneddi et al., 2021).

No cenário global, o Brasil ocupa papel estratégico como um dos maiores produtores e exportadores de commodities agrícolas. O país lidera o ranking mundial de produção e exportação de soja, café e açúcar, além de figurar entre os maiores produtores de milho, algodão e carnes. Em 2024, o agronegócio representou cerca de 23,8% do Produto Interno Bruto (PIB) nacional e aproximadamente 40% das exportações brasileiras, consolidando sua importância econômica, e, segundo dados do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), foi responsável por cerca de 40% das exportações nacionais (CNA, 2024; IBGE, 2025).

Apesar desse protagonismo, a produção agrícola enfrenta perdas significativas. Estima-se que até 40% da produção mundial seja comprometida por pragas e doenças, implicando redução de produtividade e aumento dos custos de manejo fitossanitário (FAO; IPPC, 2022). Como resposta, consolidou-se no Brasil o uso intensivo de agroquímicos, e o país ocupa, desde 2008, a posição de maior consumidor mundial desses insumos, com aproximadamente 720 mil toneladas de ingredientes ativos comercializados em 2023 (IBAMA, 2024). Além disso, o uso contínuo dessas moléculas tem acelerado a evolução de resistência em pragas e fitopatógenos, exigindo doses mais elevadas ou substituições por compostos mais caros e potencialmente mais tóxicos (Alyokhin; Chen, 2017; Nchu, 2024).

Esse conjunto de fatores evidencia a vulnerabilidade de um modelo de produção agrícola fortemente dependente de insumos químicos e reforça a necessidade de alternativas sustentáveis que conciliem produtividade, segurança alimentar e conservação ambiental. Nesse contexto, práticas como o Manejo Integrado de Pragas (MIP) e o uso crescente de bioinsumos, especialmente agentes de controle biológico, têm ganhado destaque como soluções viáveis e ambientalmente mais seguras.

1.2. Bioinsumos

Historicamente, o uso de microrganismos como ferramenta agrícola remonta a estudos do início do século XX, com registros de aplicações experimentais no controle de doenças e pragas. Nas últimas décadas, especialmente a partir dos anos 1980, o aperfeiçoamento das técnicas de isolamento, cultivo e formulação desses bioprodutos permitiu a sua produção em escala industrial para aplicações agrícolas e notáveis avanços na produção de bioinsumos (Mascarin *et al.*, 2019). A crescente preocupação com a contaminação ambiental causada pelo uso excessivo de pesticidas químicos aumentou o interesse no Manejo Integrado de Pragas (MIP), onde os bioinsumos atuam em conjunto ou substituem os químicos (Cavalcante *et al.*, 2008).

Bioinsumos são produtos utilizados para fins agrícolas que desempenham um papel significativo na melhoria do rendimento e na saúde das plantas, no aumento da disponibilidade de nutrientes no solo e na proteção contra pragas e doenças. Dentro do segmento dos bioinsumos existem os biopesticidas, os biofertilizantes, extratos de algas e metabólitos secundários, que produzem uma variedade de compostos

bioativos que estimulam o crescimento e desenvolvimento das plantas (Pacheco *et al.*, 2025, Thangaraj *et al.*, 2025).

No Brasil, o avanço dos bioinsumos foi impulsionado tanto por políticas públicas, como o Programa Nacional de Bioinsumos (PNB), quanto pela evolução de marcos regulatórios que simplificaram o registro e ampliaram a segurança jurídica para produtores e fabricantes. De acordo com a CropLife Brasil (2024), o mercado cresceu 15% na safra 2023/2024, um crescimento de 15% em relação ao ciclo anterior. Esse desempenho supera amplamente a média global e posiciona o país entre os maiores consumidores de bioinoculantes, biofungicidas e bionematicidas.

A mesma fonte (CropLife Brasil, 2025) indica que, na safra 2024/2025, a área tratada com bioinsumos chegou a 156 milhões de hectares, um incremento de 13% em relação ao ciclo anterior, com taxa média de adoção em área de 22%, quatro vezes acima da média global. Projeções indicam crescimento de até 60% no mercado até 2030, com previsão de superar R\$ 9 bilhões, e participação do Brasil chegando a 11,3% do mercado global, especialmente nos segmentos de bioinoculantes e biodefensivos (Agrolink, 2025).

Além das vantagens agrícolas diretas, a adoção de bioinsumos contribui para redução de custos de produção a médio e longo prazo e melhora a imagem do produto agrícola perante mercados internacionais, cada vez mais exigentes quanto a critérios de sustentabilidade. Em cultivos como soja, milho e cana-de-açúcar, os bioinsumos já são utilizados em mais de 150 milhões de hectares, representando cerca de 26% da área cultivada nacional (Pacheco *et al.*, 2025; Forbes Brasil, 2025).

1.2.1. Agentes de controle biológico

O controle biológico ocorre em qualquer ecossistema sem a necessidade da ação humana. Por sua vez, o homem pode interferir, manipular e facilitar a ação dos agentes de controle biológico (Fontes e Valadares-Inglis, 2020). Os agentes de controle biológico, também conhecidos como biopesticidas, são um dos principais segmentos de bioinsumos, essenciais para o Manejo Integrado de Pragas (MIP), pois oferecem alternativas sustentáveis que reduzem a dependência de insumos químicos na agricultura (Bettiol *et al.*, 2011).

O controle biológico oferece uma alternativa baseada no uso de inimigos naturais das pragas, promovendo o equilíbrio ecológico. São baseados em

organismos vivos e utilizados para controlar populações de pragas, doenças ou organismos indesejados na agricultura. Essa abordagem vem ganhando destaque nas últimas décadas devido à crescente demanda por práticas agrícolas mais seguras e ambientalmente responsáveis (Fontes e Valadares-Ingliš, 2020; Nchu *et al.*, 2024).

Os agentes podem ser classificados conforme sua origem e modo de ação, incluindo organismos vivos (microrganismos, animais microscópicos e macrorganismos) e produtos naturais derivados desses organismos. Os inimigos naturais podem ser predadores, se alimentando de diversos indivíduos da praga ou podem ser agentes de controle biológico microbianos (Fontes e Valadares-Ingliš, 2020).

Muitos microrganismos, como bactérias e fungos, secretam compostos antimicrobianos (antibióticos, enzimas líticas, substâncias voláteis, sideróforos, peptídeos, proteínas, fenóis, terpenos, policetídeos) que inibem ou matam os patógenos (Asad, 2022). Por exemplo, fungos como *Trichoderma* spp. produzem mais de 100 metabólitos secundários. *Bacillus thuringiensis* é a bactéria mais utilizada globalmente, tóxica para lagartas (*Lepidoptera*), besouros (*Coleoptera*), moscas (*Diptera*) e nematoides (Fontes e Valadares-Ingliš, 2020).

As doenças e pragas controladas por agentes biológicos abrangem algumas das mais relevantes em cultivos agrícolas brasileiros. Em soja, destacam-se o mofo-branco (causado por *Sclerotinia sclerotiorum*) e a antracnose (*Colletotrichum truncatum*), além de nematoides como *Meloidogyne* spp. e *Heterodera glycines*, que estão entre os maiores responsáveis por perdas produtivas. Em milho, o controle biológico é aplicado contra o complexo de podridões radiculares (*Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani*) e doenças foliares como a antracnose (*Colletotrichum graminicola*). Na cana-de-açúcar, destacam-se a podridão-abacaxi (*Ceratocystis paradoxa*) e podridões de raiz causadas por outros fungos do solo. Esses exemplos ilustram que o controle biológico não se limita a nichos específicos, mas atua sobre patógenos amplamente distribuídos, muitos dos quais apresentam crescentes níveis de resistência a fungicidas e bactericidas químicos, reforçando sua relevância agrônômica (Meyer; Mazaro; Silva, 2019; Yao *et al.*, 2023; Chen *et al.*, 2025).

A diversidade de agentes e seus mecanismos de ação permite o desenvolvimento de estratégias integradas de manejo, que combinam múltiplas táticas para aumentar a eficácia do controle e minimizar os riscos ambientais. Dessa

forma, os agentes de controle biológico representam uma ferramenta essencial para a agricultura sustentável.

1.2.2. Produção Industrial dos Agentes de Controle Microbiológico

A demanda por agentes de controle biológico no Brasil e no mundo reflete uma preocupação cada vez maior com a segurança alimentar e a sustentabilidade da produção agrícola. Nesse contexto, os produtos baseados em microrganismos têm se destacado como a principal categoria de bioinsumos. No Brasil, fungos do gênero *Trichoderma* spp. tem sido um agente crucial, com o primeiro produto comercial registrado em 2006 e um uso que já abrange milhões de hectares (Bettiol *et al.*, 2013; 2014; Pacheco *et al.*, 2025).

Para atender a demanda desses produtos, a produção industrial de agentes microbianos para uso agrícola é fundamental e visa obter um produto com características padronizadas de pureza, viabilidade no armazenamento, economia, facilidade de aplicação e eficiência no controle do alvo. A produção de microrganismos benéficos normalmente utiliza esporos como ingrediente ativo principal e é realizada por meio de diferentes tipos de fermentação: a fermentação submersa, a fermentação bifásica e a fermentação em estado sólido (FES) (Krishna, 2005; Farinas, 2015).

No processo da fermentação submersa os microrganismos são cultivados em um meio líquido que contém fontes de carbono, nitrogênio e outros nutrientes. Esse processo oferece maior controle das variáveis, sendo amplamente utilizada para produção de enzimas (Farinas, 2015). Entretanto, os propágulos produzidos nessa fermentação, denominados blastósporos, são hidrofílicos e perdem viabilidade mais rapidamente durante o armazenamento (Pham *et al.*, 2010). A fermentação bifásica envolve o uso do meio líquido para produção de blastósporos e a transferência desses propágulos para um meio sólido para produzir os esporos que serão utilizados nos diferentes tipos de formulação. (Silva *et al.*, 2024).

A fermentação em estado sólido (FES) é considerada a melhor opção para a produção massal de esporos fúngicos, pois o crescimento de microrganismos ocorre sobre substratos sólidos, sem presença de água livre, condição semelhante a seu habitat natural (Mascarin *et al.*, 2019). Essa técnica apresenta vantagens como maior densidade de esporulação, menores custos energéticos e possibilidade de utilização de resíduos agroindustriais como substrato. Os fatores que influenciam esse tipo de

fermentação incluem composição nutricional e granulometria do substrato, teor de umidade, aeração e temperatura (Krishna *et al.*, 2005).

Componentes inertes têm sido amplamente empregados como suportes físicos em processos de fermentação em estado sólido, incluindo argilas bentoníticas, vermiculita e espumas poliméricas. Esses materiais contribuem para a estabilidade estrutural do substrato, favorecendo a distribuição de umidade, aeração e formação de redes hifais contínuas, aspectos essenciais para o crescimento de fungos filamentosos em meios de baixa umidade, como no cultivo de *Trichoderma* (Wang *et al.*, 2021).

No desenvolvimento de bioinsumos, a escolha do suporte está diretamente relacionada à sua função. Em formulações secas ou granuladas, por exemplo, a adição de argilas bentoníticas pode aumentar a estabilidade e a viabilidade dos esporos durante o armazenamento, reduzindo a perda de integridade celular ao longo do tempo (Silva *et al.*, 2024). Além disso, devido às suas propriedades físico-químicas, como elevada capacidade de troca catiônica, retenção hídrica e estrutura lamelar expansível, a bentonita é capaz de melhorar características físicas de substratos e solos, aumentando a disponibilidade de água e nutrientes e estimulando a atividade microbiana e enzimática associada a ciclos bioquímicos essenciais (Al-Taey *et al.*, 2023). Estudos mostram que a adição de bentonita pode aumentar a sobrevivência de propágulos microbianos, como observado para *Bacillus subtilis* e *Trichoderma asperelloides*, indicando que sua atuação não é apenas físico-estrutural, mas também protetora e estabilizadora de células e esporos (Silva *et al.*, 2024).

No contexto da produção de fungos para controle biológico no Brasil, o arroz permanece como o substrato padrão para a produção de esporos em larga escala, devido à sua composição nutricional, resistência estrutural, disponibilidade e custo acessível, além de permitir a padronização microbiológica e operacional (Hewavitharana *et al.*, 2018; Mascarin *et al.*, 2019). No entanto, o uso intensivo desse cereal na fabricação de bioinsumos gera grande volume de resíduo pós-fermentativo, ainda com potencial biótico significativo.

Assim, a incorporação de bentonita nos processos de FES é uma estratégia que visa reconstituir a porosidade, modular a retenção de umidade e reduzir a compactação estrutural ao longo de ciclos sucessivos de uso, mantendo a eficiência de crescimento e esporulação de *Trichoderma harzianum*.

Considerando que a eficiência da produção de esporos em fermentação em estado sólido depende diretamente das características físico-químicas do substrato, especialmente da sua porosidade, capacidade de retenção de água e suporte ao crescimento micelial, diferentes materiais têm sido avaliados na literatura. A Tabela 1 apresenta estudos que demonstram a variação da esporulação de fungos de interesse biotecnológico, incluindo *Trichoderma harzianum*, em diferentes substratos, evidenciando que a estrutura do meio exerce papel chave na produtividade fúngica.

Isolado	Esporos/grama	Substrato	Cultivo	Referência
<i>T. harzianum</i>	2,3–7,4 × 10 ⁸	Farelo de milho	28 °C, 7 dias	Cavalcante, 2008
<i>T. harzianum</i>	2,2–5,8 × 10 ⁸	Arroz	28 °C, 7 dias	Cavalcante, 2008
<i>T. harzianum</i>	9,2 × 10 ⁷	Farelo de arroz	25 °C, 8 dias	Sargin, 2013
<i>T. harzianum</i>	1,1 × 10 ⁸	Semente de apalгодão	25 °C, 8 dias	Sargin, 2013
<i>T. harzianum</i>	1,6 × 10 ⁸	Arroz	28 °C, 12 dias	Muniz, 2018
<i>T. harzianum</i>	2,6 × 10 ⁸	Arroz	28 °C, 12 dias	Muniz, 2018
<i>T. harzianum</i>	0,5 × 10 ⁸	Arroz	28 °C, 12 dias	Muniz, 2018
<i>B. bassiana</i>	1,02 × 10 ¹⁰	Arroz	25 °C, 12 dias,	Posada-Flórez, 2008
<i>B. bassiana</i>	1,6 × 10 ⁹	Arroz	27 °C, 10 dias	Cando-Narváez, 2021
<i>B. bassiana</i>	2,8 × 10 ⁹	Farelo de trigo	27 °C, 10 dias	Cando-Narváez, 2021
<i>M.anisopliae</i>	4,5 × 10 ⁹	Arroz	27 °C, 12 dias	Pham <i>et al.</i> , 2010

Entretanto, o uso desse cereal como matéria-prima industrial levanta questões econômicas, uma vez que se trata de um alimento básico para grande parte da população brasileira e mundial. O arroz é um dos três cereais mais importantes para a alimentação, juntamente com o milho e o trigo, que juntas fornecem mais de 40% do consumo calórico humano. Além disso, estima-se que mais da metade da população do mundo possui o arroz como principal alimento consumido. Com o crescimento do mercado de bioinsumos, a demanda por arroz como substrato também se intensifica, aumentando a competição com o setor alimentício (Ferreira, Barrigossi, 2021).

O resíduo sólido de arroz gerado após o ciclo produtivo e a extração de esporos deve ser descartado adequadamente, geralmente destinado à incineração para produção de energia. A moagem desse resíduo sólido para uso como substrato em formulações pode ser uma alternativa simples, econômica e livre de resíduos, utilizando o conceito de “biorrefinaria completa”, permitindo a bioconversão de um

resíduo agroindustrial em um produto de valor agregado para reduzir o impacto ambiental (Farinas, 2015; Silva *et al.*, 2024).

1.3. Gênero *Trichoderma* spp: mecanismos de ação para controle de fitopatógenos e promoção do crescimento vegetal

O gênero *Trichoderma* é um grupo de fungos filamentosos presente em praticamente todos os tipos de solos e ambientes naturais. São microrganismos versáteis e oportunistas, capazes de atuar tanto como agentes de controle biológico quanto como promotores de crescimento vegetal. As espécies do gênero são tipicamente de crescimento rápido e reportadas por serem capazes de resistir a condições ambientais adversas, principalmente por sua habilidade em produzir esporos e outras estruturas de resistência. Entre as espécies de maior importância agrícola estão *T. harzianum*, *T. viride* e *T. atroviride*, com destaque para *T. harzianum* pela sua adaptabilidade a diferentes condições edafoclimáticas e eficácia em variados sistemas de cultivo (Meyer; Mazaro; Silva, 2019; Contreras-Cornejo *et al.*, 2024).

1.3.1. Micoparasitismo

Através de estímulos químicos no solo, o fungo é capaz de detectar outros fungos e crescer em sua direção. Proteínas reconhecem o patógeno e o micélio penetra a parede celular do patógeno, com liberação de enzimas hidrolíticas como quitinases e glucanases que degradam os componentes estruturais da parede celular e podem inibir a germinação dos esporos ou das hifas do fitopatógeno (Gomes *et al.*, 2015; Meyer; Mazaro; Silva, 2019; Contreras-Cornejo *et al.*, 2024).

1.3.2. Antibiose

O gênero produz diversos metabólitos secundários, voláteis e não voláteis, com atividade antimicrobiana capaz de inibir ou impedir o desenvolvimento de diversos patógenos. Estudos de genômica comparada demonstraram que as espécies de *Trichoderma* têm as maiores reservas de clusters de genes relacionados com a biossíntese de metabólitos secundários (Meyer; Mazaro; Silva, 2019; Contreras-Cornejo *et al.*, 2024).

1.3.3. Competição

O *Trichoderma* é um excelente competidor por espaço e recursos nutricionais. Sua capacidade de colonizar rapidamente a rizosfera e utilizar uma ampla gama de fontes de carbono e nitrogênio, incluindo exsudatos radiculares, reduz a disponibilidade desses recursos para os patógenos. A produção de sideróforos (compostos que quelam e sequestram ferro) e a solubilização de fosfatos também contribuem para essa vantagem competitiva (Meyer; Mazaro; Silva, 2019; Contreras-Cornejo *et al.*, 2024).

1.3.4. Indução de Resistência em Plantas (IRS/SAR)

A indução de resistência em plantas é um mecanismo indireto de controle biológico. O gênero *Trichoderma* ativa o sistema de defesa da planta hospedeira por diversas vias metabólicas diferentes, seja pela liberação de peptídeos, proteínas e/ou compostos de baixo peso molecular que atuam como moléculas sinalizadoras (MAMPs). A interação com o *Trichoderma* desencadeia uma cascata de transdução de sinais que leva à fortificação das paredes celulares (deposição de calose e lignina), produção de metabólitos secundários antimicrobianos (fitoalexinas) e proteínas de defesa (PR-proteínas, quitinases, glucanases) e, o acúmulo de fitohormônios como ácido salicílico (SA), etileno (ET) e ácido jasmônico (JA), que são essenciais para a resposta imune sistêmica. *Trichoderma* pode modular o equilíbrio hormonal da planta, induzindo Resistência Sistêmica Adquirida (SAR, do inglês, *Systemic Acquired Resistance*) ou Resistência Sistêmica Induzida (ISR, do inglês, *Induced Systemic Resistance*) (Hermosa *et al.*, 2014; Contreras-Cornejo *et al.*, 2024; Thangaraj, Balamurali e Muthusamy, 2025).

1.3.5. Promoção do Crescimento Vegetal

Além do controle de doenças, muitas linhagens de *Trichoderma*, incluindo *T. harzianum*, promovem o crescimento das plantas, aumentando a biomassa, o desenvolvimento do sistema radicular, a absorção de nutrientes e a eficiência fotossintética. Dentre os fatores pelos quais o gênero é reconhecido estão a produção

de fitohormônios, como o ácido indolacético (AIA) e análogos de auxina, que influenciam o alongamento celular e a arquitetura das raízes, a melhora na solubilização e absorção de nutrientes, como fósforo, ferro, zinco e outros micronutrientes, tornando-os mais disponíveis para a planta e a proteção contra estresses abióticos, como o estresse salino e hídrico, tornando as plantas mais tolerantes (Hermosa *et al.*, 2014; Contreras-Cornejo *et al.*, 2024; Thangaraj, Balamurali e Muthusamy, 2025).

1.3.6. Principais Patógenos Controlados pelo Gênero *Trichoderma*

Esses mecanismos podem atuar de forma sinérgica, resultando em controle eficiente e duradouro das doenças de plantas. Os principais fitopatógenos incluem causadores de murchas, podridões radiculares e tombamento, como espécies do gênero *Fusarium* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Sclerotinia* spp., *Botrytis* spp., *Phytophthora* spp., *Verticillium* spp., *Colletotrichum* spp., (Yao *et al.*, 2023; Chen *et al.*, 2025).

Além de outros fungos, o gênero *Trichoderma* spp. pode controlar doenças bacterianas como a podridão mole em repolho causada por *Pectobacterium carotovorum* subsp. *Carotovorum*. Foi demonstrado controle de *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* em pepineiro e *Ralstonia solanacearum* e *Xanthomonas euvesicatoria* em tomateiro. O gênero também é antagonista conhecido de nematoides fitoparasitas como *Pratylenchus zae* e *Radopholus similis* (Meyer; Mazaro; Silva, 2019; Yao *et al.*, 2023; Chen *et al.*, 2025).

1.4. Justificativa

O crescimento acelerado do mercado de bioinsumos no Brasil, impulsionado pela busca por alternativas sustentáveis aos insumos químicos, tem ampliado significativamente a demanda por microrganismos utilizados no manejo fitossanitário e na promoção do crescimento vegetal. Nesse contexto, o cultivo em estado sólido (FES) é amplamente empregado em biofábricas para a produção de agentes de biocontrole, destacando-se o uso de *Trichoderma harzianum* devido à sua eficiência e adaptabilidade a diferentes sistemas agrícolas.

Dentre os substratos utilizados para FES, o arroz destaca-se como principal insumo, em razão de sua elevada disponibilidade de amido, estabilidade física e excelente área superficial, características que favorecem altas taxas de esporulação. No entanto, o uso intensivo desse cereal para fins industriais implica um desvio de um alimento básico da cadeia de abastecimento humano, especialmente no Brasil, onde o arroz ocupa posição central na segurança alimentar (Ferreira, Barrigossi, 2021).

Adicionalmente, o arroz representa parcela relevante dos custos de produção em biofábricas, de modo que a busca por alternativas que reduzam sua demanda é estratégica tanto do ponto de vista econômico quanto ambiental. Após o primeiro ciclo de cultivo e a extração de esporos, o arroz utilizado como substrato é atualmente descartado, geralmente por incineração, mesmo contendo resíduos de matéria orgânica e metabólitos que poderiam sustentar novos ciclos de fermentação ou servir como insumo para outras aplicações (De La Cruz Quiroz, 2015; Silva *et al.*, 2024).

O reaproveitamento desse material residual apresenta potencial para racionalizar o uso de recursos, reduzir custos operacionais, diminuir o volume de resíduos agroindustriais e mitigar impactos ambientais associados à sua destinação, além de possibilitar o desenvolvimento de novas formulações e produtos, como biofertilizantes ou condicionadores de solo, alinhando-se aos princípios da economia circular.

Apesar de seu potencial, são escassos os estudos científicos que avaliem a viabilidade técnica e econômica do reuso do arroz após cultivo de microrganismos, nesse sentido, a presente pesquisa busca contribuir para preencher essa lacuna, propondo e avaliando um processo de reaproveitamento do arroz residual proveniente da produção de *T. harzianum* como substrato para novo ciclo de cultivo.

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo Geral

O objetivo deste estudo foi investigar o reaproveitamento de arroz residual, previamente utilizado como substrato, em novos ciclos de Cultivo em Estado Sólido, utilizando *Trichoderma harzianum* como organismo modelo para a produção de microrganismos.

1.5.2. Objetivos Específicos

Para atingir o objetivo geral, os objetivos específicos deste trabalho foram:

- Desenvolver uma formulação à base do resíduo de arroz previamente cultivado para sua utilização como substrato no Cultivo em Estado Sólido de *Trichoderma harzianum*;
- Comparar o desempenho do cultivo no arroz reprocessado com aquele obtido em arroz fresco, quanto à produção de biomassa;
- Comparar a viabilidade da cepa no substrato reaproveitado em relação ao substrato fresco.

2. Capítulo 2 – Materiais e Métodos

Este capítulo apresenta os procedimentos experimentais utilizado para avaliar o reuso do resíduo de arroz previamente empregado no cultivo de *Trichoderma harzianum*, visando a um segundo ciclo de cultivo do mesmo microrganismo.

2.1. Materiais

Os experimentos realizados neste trabalho utilizaram esporos da espécie *Trichoderma harzianum* (cepa LQC99), da Coleção de Microrganismos de Importância Agrícola e Ambiental (CMAA) da Embrapa Meio Ambiente, localizada em Jaguariúna, São Paulo, Brasil (22°43'43" S; 47°01'04" W). Suspensões de esporos foram preparadas em solução estéril de NaCl a 0,85% (p/v) (Dinâmica®, Indaiatuba, Brasil), com 20% (v/v) de glicerol (Dinâmica®, Indaiatuba, Brasil), e armazenadas a -80 °C. Essas suspensões foram utilizadas como fonte de inóculo para cultivo do microrganismo em meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA) (Neogen®, Michigan, EUA).

O arroz residual, previamente utilizado como substrato para o cultivo de *Trichoderma harzianum*, foi fornecido em forma de pó pela empresa Simbiose Agro®, localizada em Cruz Alta, Rio Grande do Sul, Brasil (28°44'12.55" S; 53°37'1.24" W), e empregado como substrato reaproveitado nos ensaios experimentais. Foi utilizada bentonita sódica (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) como suporte inerte nas formulações. Como controle, foi utilizado arroz parboilizado tipo 1 (marca Qualitá),

adquirido em mercados locais, que serviu como substrato de referência para comparação da produção de biomassa.

Para a extração dos esporos ao final dos cultivos, utilizou-se solução de NaCl 0,85% contendo 1% de polioxietileno monooleato de sorbitano (Tween® 80, Synth®, Diadema, Brasil), além de gaze tipo “queijo” para filtração. A determinação da viabilidade dos esporos, foi realizada por meio de plaqueamento em meio BDA suplementado com 0,5% de Triton™ X-100 (Dinâmica®, Indaiatuba, Brasil), em placas de Petri estéreis.

2.2. Formulações contendo o arroz residual de *Trichoderma harzianum*

Com o objetivo de estabelecer uma formulação base viável para os experimentos subsequentes, foram conduzidos testes preliminares com foco na maximização do uso do resíduo de arroz como substrato. Ao todo, cinco formulações foram avaliadas, todas preparadas na proporção de 1:1 (m/m), organizadas em dois grupos principais: (i) formulações contendo uma fonte externa de amido (amido de milho); e (ii) formulações compostas exclusivamente pelo resíduo de arroz reaproveitado.

As formulações testadas foram as seguintes:

- Formulação 1: 10% (m/v) de amido de milho gelatinizado + pó do resíduo de arroz;
- Formulação 2: 15% (m/v) de amido de milho gelatinizado + pó do resíduo de arroz;
- Formulação 3: 20% (m/v) de amido de milho gelatinizado + pó do resíduo de arroz;
- Formulação 4: 20% (m/v) do pó do resíduo gelatinizado + pó do resíduo;
- Formulação 5: 30% (m/v) do pó do resíduo gelatinizado + pó do resíduo.

Para o preparo do gel, tanto de amido de milho quanto do pó do resíduo de arroz, foi realizada com água destilada, a 70 °C, sob agitação constante em agitador mecânico, por 15 minutos. Após a gelatinização, o gel foi misturado, em proporção 1:1 (m/m), a fração do resíduo de arroz. A homogeneização foi realizada com o auxílio de um liquidificador, para obter de uma massa de consistência uniforme.

Nessa etapa preliminar, não foi realizada a quantificação da produção de biomassa fúngica; a seleção da formulação base considerou exclusivamente critérios qualitativos, como consistência, aparência visual, coesão da matriz e resistência mecânica do material, para investigar a possibilidade de usar o resíduo como principal componente do substrato ou a necessidade de suplementação externa de amido.

2.3. Processamento do arroz residual em diferentes tamanhos de molde

Todas as formulações selecionadas foram moldadas utilizando uma prensa hidráulica com aquecimento (modelo SL 10/30, Solab Científica®, Piracicaba, Brasil), sob condições controladas de temperatura e pressão. O processo consistiu na aplicação de 10.000 psi, a 70 °C, durante 15 minutos. Os moldes, esféricos, em aço inoxidável, apresentavam altura fixa de 3 mm e diâmetros variáveis de 4,5 mm, 9,5 mm e 14,5 mm. A Figura 1 mostra um exemplo de molde utilizado e as pastilhas feitas em cada diâmetro.

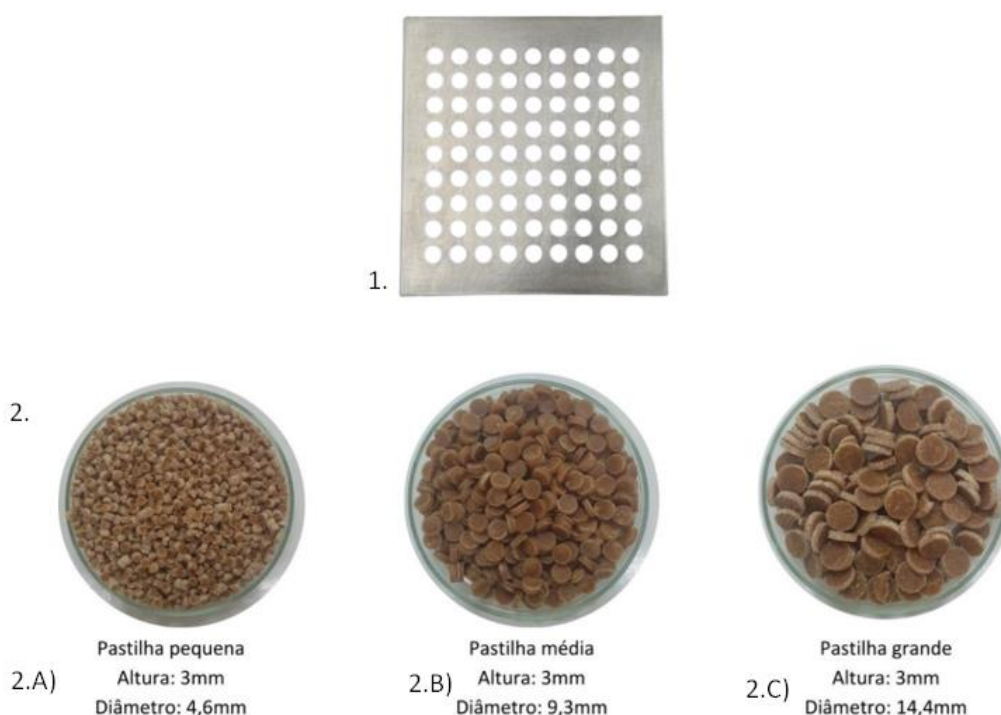


Figura 1. Molde metálico (1.) utilizado para a obtenção das pastilhas, e representação dos três tamanhos produzidos com altura uniforme e variando o diâmetro.

2.4. Cultivo de *Trichoderma* spp. e obtenção dos esporos para os experimentos de fermentação em estado sólido

Para garantir a padronização dos ensaios, uma nova suspensão de esporos foi preparada para cada experimento ao longo deste trabalho. O inóculo inicial da cepa *Trichoderma harzianum* foi obtido por meio da reativação de esporos armazenados sob ultracongelamento ($-80\text{ }^{\circ}\text{C}$), pela transferência para placas de Petri contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA).

As culturas foram incubadas em câmara climatizada do tipo B.O.D., sob condições controladas de temperatura ($28 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) e fotoperíodo (12 horas de luz/12 horas de escuro), durante 7 dias. Ao final do período de incubação, os esporos foram coletados com uma solução estéril de NaCl 0,85% (p/v) contendo 0,1% (v/v) de Tween® 80. A concentração da suspensão foi determinada com o auxílio de uma câmara de Neubauer e ajustada para $1,0 \times 10^7$ esporos por grama de substrato seco em todos os experimentos, conforme metodologia adaptada de Favaro *et al.*, 2022.

2.5. Fermentação em Estado Sólido

O crescimento de *Trichoderma harzianum* foi avaliado nas formulações desenvolvidas. Como controle, utilizou-se arroz parboilizado tipo 1, empregado como substrato de referência para cultivo convencional. Para o ajuste de umidade, 20 g de arroz parboilizado, com umidade inicial de 3%, foram imersos em 50 mL de água destilada, à temperatura ambiente, por 30 minutos, atingindo aproximadamente 30% de umidade final. O tempo de exposição foi definido com base na estabilização da umidade, conforme metodologia adaptada de Cavalcante *et al.* (2008). Para as formulações prensadas, com umidade inicial em torno de 20%, optou-se por não realizar ajuste de umidade. A submersão foi descartada pois comprometeu a integridade das pastilhas.

As amostras foram distribuídas em frascos Erlenmeyer de 125 mL, contendo 20 g de substrato, e submetidas à esterilização em autoclave a $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 20 minutos. Após o resfriamento, os frascos foram inoculados com suspensão de esporos de *T. harzianum*, ajustada para a concentração de 1×10^7 esporos por grama de substrato seco. Os frascos foram incubados em câmaras de crescimento do tipo B.O.D., a $28 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, sob fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro, por um período

de sete dias. Durante a incubação, as amostras foram agitadas manualmente uma vez ao dia, para evitar a compactação da biomassa.



Figura 2. Frascos Erlenmeyer contendo pastilhas de arroz utilizadas como substrato sólido para o cultivo. Cada frasco contém aproximadamente 20g de pastilhas.

2.6. Adição de bentonita como suporte inerte à fermentação em estado sólido

Para melhorar a retenção de umidade do substrato, a bentonita sódica foi incorporada em concentrações de 2% e 5% (m/m), calculadas com base na massa total final da formulação. A adição foi realizada após a gelatinização do arroz residual em pó, durante o preparo da massa. A escolha pela bentonita sódica deve-se à sua elevada capacidade de absorção de água e expansão, características que favorecem a estabilidade hídrica ao longo do cultivo. O efeito da adição foi avaliado com base na produção de biomassa, expressa em esporos por grama de substrato seco.

2.7. Extração dos esporos da fermentação em estado sólido

Após o término do período de cultivo a extração dos esporos foi realizada por meio de um processo de filtragem. A biomassa fúngica foi submetida à agitação em solução salina contendo NaCl a 0,85% e Tween 80 a 1% (v/v), na proporção de 2,5 mL de solução para cada 1 g de substrato seco. As amostras permaneceram sob agitação em agitador orbital, a 250 rpm e 25 ± 2 °C, durante 30 minutos. Alíquotas da solução foram utilizadas para a contagem de esporos em câmara de Neubauer, sob

microscópio óptico com aumento de 40×, conforme metodologia descrita por Bettiol *et al.* (2013).

2.8. Equações

A concentração foi inicialmente expressa em esporos por mililitro, conforme a equação 1:

$$\text{esporos/mL} = \frac{N \times FD \times 25}{10^{-4}} \quad (\text{Equação 1})$$

Sendo:

N = média de contagem nas áreas da câmara;

FD = fator de diluição utilizado;

25 = número de quadrantes utilizados na câmara de Neubauer;

10^{-4} = volume total da lâmina, em mililitros.

A concentração final foi convertida para esporos por grama de substrato seco, obtida pela equação 2:

$$\text{esporo/g} = \frac{\text{esporos/mL} \times \text{volume de extração}}{\text{massa de substrato seco}} \quad (\text{Equação 2})$$

Sendo:

esporos/mL = a concentração estimada pela Câmara de Neubauer;

$\text{Volume de extração}$ = volume da solução NaCl 0,85%/Tween 1% utilizado (50mL);

$\text{Massa de substrato seco}$ = quantidade inicial de substrato utilizada no cultivo (20g).

A viabilidade dos esporos foi determinada por plaqueamento em meio BDA suplementado com 0,5% de Triton™ X-100, utilizando diluições seriadas da suspensão e a técnica de espalhamento em superfície (*spread plate*). As placas foram incubadas a 28 ± 2 °C, por 48 horas, em câmara do tipo B.O.D. A viabilidade foi

estimada com base no crescimento e na formação de Unidades Formadoras de Colônias (UFC), conforme metodologia descrita por Bettiol *et al.* (2013).

O cálculo para determinação de UFC por grama, com base na contagem em placa de Petri, foi realizado pela equação 3:

$$UFC/g = \frac{N \times \text{diluição} \times \text{volume de extração}}{\text{massa de substrato seco}} \quad (\text{Equação 3})$$

Sendo:

N = número médio de colônias da diluição selecionada;

Diluição = diluição seriada em que a contagem das colônias em placa é obtida;

Volume de extração = volume da solução NaCl 0,85%/Tween 1% utilizado (50mL);

Massa seca extração = quantidade inicial de substrato utilizada no cultivo (20g).

2.9. Caracterizações

Para avaliar as propriedades dos substratos foram realizadas análises complementares que contribuíram para a compreensão do desempenho das formulações no cultivo em estado sólido. As técnicas aplicadas incluíram análise elementar (CHN), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e medida do ângulo de contato.

A análise elementar (CHN) foi utilizada para determinar os teores de carbono (C), hidrogênio (H) e nitrogênio (N) no arroz parboilizado e no resíduo de arroz. As amostras secas e moídas foram submetidas à combustão completa em Analisador Elementar AE 2400 (PerkinElmer, Massachusetts, EUA) e os dados obtidos permitiram estimar a necessidade de suplementação nutricional nas formulações.

A caracterização morfológica da superfície e das fraturas das pastilhas foi realizada por MEV, com auxílio do equipamento JSM-6510 (JEOL). As amostras foram fixadas em stubs de alumínio, metalizadas com ouro e analisadas em modo elétron secundário sob diferentes ampliações.

A hidrofília superficial foi determinada por meio da medida do ângulo de contato. As imagens foram capturadas com tensiômetro óptico Theta Lite (Biolin

Scientific AB), e a análise foi realizada com o software do equipamento. Superfícies com ângulo inferior a 90° foram classificadas como hidrofílicas.

A resistência mecânica das pastilhas formuladas a partir do resíduo de arroz foi avaliada por meio da análise de corte/cisalhamento utilizando o analisador de textura TA.XT Plus (Extralab, Brasil). O ensaio foi conduzido com velocidade de 1,5 mm/s, distância de 10 mm e trigger force de 0,04903 N. O parâmetro de interesse foi a força máxima de fratura, expressa em Newtons (N), considerada um indicador da resistência mecânica do material.

2.10. Forma de análise dos resultados

Cada experimento foi conduzido com três repetições independentes, sendo realizadas três réplicas por repetição. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão e submetidos à análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey para comparação das médias, com nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software OriginLab 2021 v9.8.

3. Capítulo 3 – Resultados e Discussão

Os resultados obtidos neste estudo demonstram a viabilidade técnica do reuso do arroz previamente colonizado por microrganismos como substrato em um novo ciclo de fermentação. Os dados aqui apresentados são corroborados por estudos prévios (Cunha *et al.*, 2020; Cando-Narvaez *et al.*, 2022), que já haviam levantado a possibilidade de reutilização dos substratos da fermentação em estado sólido. Em particular, os trabalhos evidenciam que o arroz residual, após a primeira extração de esporos, mantém características capazes de sustentar novos ciclos de cultivo (Cando-Narvaez *et al.*, 2021).

Outro aspecto de destaque é a contribuição para a sustentabilidade. A possibilidade de reuso do substrato sólido alinha-se diretamente aos princípios da bioeconomia e da agricultura circular, nos quais resíduos de processos industriais são reincorporados à cadeia produtiva. Entretanto, é importante reconhecer que a reutilização do arroz pode apresentar limitações. Um dos desafios refere-se ao possível acúmulo de metabólitos secundários e alterações na estrutura física do

substrato após sucessivos ciclos, fatores que podem comprometer o crescimento micelial em longo prazo.

Além disso, variações entre espécies e isolados sugerem que a aplicabilidade da estratégia deve ser validada individualmente para cada microrganismo de interesse. Apesar desses pontos, os resultados obtidos demonstram que, pelo menos em condições controladas, a reutilização do arroz é uma prática viável, com potencial para ser integrada em escala industrial.

3.1. Formulação das pastilhas de resíduo de arroz

Nesse trabalho, será denominado “resíduo de arroz” o arroz em pó oriundo da produção de conídios de *Trichoderma harzianum*. O desenvolvimento de uma formulação adequada ao crescimento do microrganismo no arroz residual constituiu uma etapa central para validar a proposta deste estudo, uma vez que ainda são escassos na literatura relatos do reaproveitamento desse substrato em específico após seu uso nas biofábricas. A partir do resíduo de arroz, foram avaliadas diferentes formulações, algumas contendo apenas diferentes concentrações de resíduo e outras combinando resíduo e uma fonte externa de amido. O objetivo foi encontrar uma composição que permitisse o processo de prensagem e o crescimento do microrganismo, maximizando a proporção do resíduo utilizado.

A gelatinização em água, do arroz residual a 70 °C, foi realizada para facilitar a hidrólise do amido pelo microrganismo, devido ao seu papel na modificação estrutural, promovendo a exposição de regiões amorfas mais acessíveis às enzimas fúngicas e conferindo ao material propriedades adequadas ao processo de compactação (Tester; Debon, 2000). A formulação preliminar selecionada foi obtida a partir da gelatinização de 30% (m/v) do resíduo e da mistura, em proporção 1:1 (m/m), com sua fração em pó. Essa formulação apresentou consistência moldável e resistência mecânica suficiente para a produção e manuseio de pastilhas estáveis.

O crescimento preliminar do *T. harzianum* foi observado nas formulações contendo apenas resíduo, o que demonstra que o material retém nutrientes suficientes para sustentar o metabolismo do fungo. Esses resultados, mesmo sendo preliminares, reforçaram a hipótese do reuso do substrato, ainda que passando por uma etapa extra de processamento. Trabalhos prévios relatam resultados semelhantes ao avaliar outros tipos de resíduos agroindustriais ricos em amido, como farelos e subprodutos

de milho, que também foram capazes de sustentar o crescimento de fungos filamentosos sem fontes de suplementação adicional (Singhania *et al.*, 2009; Hölker *et al.*, 2004).

3.2. Teste da formulação do resíduo em diferentes tamanhos de molde

A influência da área superficial na produção de esporos foi avaliada pela prensagem da formulação em três moldes com diâmetros diferentes. A hipótese se baseou no comportamento característico de fungos filamentosos, cujo crescimento tende a se concentrar nas superfícies expostas do substrato sólido, onde há maior disponibilidade de oxigênio e, conseqüentemente, condições mais favoráveis à esporulação. O diâmetro das pastilhas foi pensado levando em consideração o tamanho médio dos grãos de arroz (entre 5 e 7mm de comprimento) (Mitchell *et al.*, 2000).

Os resultados estão apresentados na Tabela 2, que mostra a produção de biomassa expressa como a média de esporos por grama de substrato seco e a concentração de esporos por área (mm²) em cada cultivo.

Tabela 2 – Produção de biomassa em diferentes tamanhos da pastilha		
Amostras	Esporos (g⁻¹; média ± DP)	Esporos por mm²
Arroz parboilizado	5,7 × 10 ⁸ ± 0,5 × 10 ⁷ A	1,6 × 10 ⁵
Pastilha Pequena	6,3 × 10 ⁷ ± 0,1 × 10 ⁷ B	4,7 × 10 ⁴
Pastilha Média	5,7 × 10 ⁷ ± 0,5 × 10 ⁷ B	1,0 × 10 ⁵
Pastilha Grande	5,3 × 10 ⁷ ± 0,9 × 10 ⁷ B	8,9 × 10 ⁴

Os valores representam média ± desvio padrão. Médias seguidas de letras distintas diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).

Os resultados mostram que o arroz parboilizado apresentou a maior média na produção de esporos por grama de substrato, valor significativamente superior ao das formulações em pastilhas. Considerando a área superficial, o arroz também exibiu a maior densidade de esporos por mm² (1,6 × 10⁵), o que está de acordo com o tamanho médio dos grãos.

Entre as formulações testadas, a Pastilha Média apresentou a densidade de esporos por área mais próxima à do arroz fresco, com 1,0 × 10⁵ esporos/mm². Além do desempenho biológico, observou-se que a pastilha média apresentou maior uniformidade física e resistência mecânica durante o manuseio, em comparação com

as pastilhas pequena e grande, que demonstraram maior fragilidade. Assim, a pastilha média foi selecionada para os experimentos subsequentes.

Trabalhos prévios sugerem que a rigidez mecânica do substrato é um fator determinante para o crescimento superficial do micélio, favorecendo a fixação e a esporulação (Yang *et al.*, 2024). Entretanto, a área superficial, isoladamente, não é suficiente para determinar o desempenho do cultivo. Outros fatores interagem de maneira complexa, modulando o crescimento e a esporulação fúngica.

3.3. Viabilidade do microrganismo cultivado no arroz recuperado

No presente trabalho, a viabilidade do microrganismo *Trichoderma harzianum* cultivado nas pastilhas formuladas a partir do resíduo de arroz foi determinada por meio da contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC/g), a fim de comparar os resultados com o substrato controle (arroz parboilizado). Os dados obtidos estão apresentados na Tabela 3, na qual se observa que todas as formulações derivadas do resíduo mantiveram a viabilidade do microrganismo ao longo do cultivo.

Tabela 3 – Viabilidade do microrganismo cultivado nas pastilhas	
Amostras	UFC/g (média ± DP)
Arroz parboilizado (controle)	$3,5 \times 10^8 \pm 0,4 \times 10^8$ ^A
Pequena	$1,8 \times 10^7 \pm 0,3 \times 10^7$ ^B
Média	$1,7 \times 10^7 \pm 0,2 \times 10^7$ ^B
Grande	$1,5 \times 10^7 \pm 0,2 \times 10^7$ ^C

Os valores representam média ± desvio padrão. Médias seguidas de letras distintas diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os resultados indicam que a formulação testada preservou a capacidade de multiplicação celular de *T. harzianum*. Do ponto de vista biotecnológico, a manutenção da viabilidade é particularmente relevante, pois sugere que as células produzidas mantiveram alta taxa de viabilidade e o reaproveitamento do resíduo não comprometeu a funcionalidade do microrganismo, o que é um indicador crucial para a aplicação do material em processos de biocontrole. Estudos prévios já demonstraram que o gênero *Trichoderma* spp. possui notável plasticidade fisiológica, sendo capaz de adaptar seu metabolismo a diferentes matrizes lignocelulósicas e agroindustriais, mantendo desempenho satisfatório mesmo diante de variações nutricionais (Papagianni, 2004; Harman *et al.*, 2012).

Do ponto de vista aplicado, isso amplia as perspectivas de uso do resíduo, uma vez que a viabilidade microbiana é um requisito para formulações comerciais de bioinsumos. A manutenção da atividade do *T. harzianum* em substratos reaproveitados indica que, com ajustes finos no processo de formulação ou processamento, é possível alcançar níveis de produtividade próximos aos do substrato convencional, mas com menor custo e maior sustentabilidade ambiental.

3.4. Cultivo das pastilhas com bentonita como suporte na formulação

A incorporação de suportes inertes em substratos para cultivo microbiano é uma estratégia utilizada para otimizar propriedades físicas e químicas de formulações, melhorando a eficiência dos sistemas de fermentação em estado sólido. Esses suportes fornecem uma matriz física ao microrganismo, favorecendo a adesão, o crescimento e a esporulação, sem necessariamente atuarem como fonte de nutrientes (Krishna, 2005; Al-Taey et al., 2023; Silva et al., 2024; Yang et al., 2024).

Dentre os suportes possíveis, destaca-se a bentonita sódica, composta predominantemente por montmorilonita, um filossilicato lamelar constituído por folhas tetraédricas de Si–O e octaédricas de Al–(Mg)–O, conforme indicado na Figura 3. Entre essas lamelas encontram-se cátions Na^+ hidratáveis, que permitem a entrada de moléculas de água no espaço interlamelar, promovendo inchamento e formação de domínios hidratados estáveis. A hidratação de Na^+ no espaço interlamelar aumenta a retenção de umidade no substrato. (Ferreira, 2009; Silva & Ferreira, 2008; Al-Taey et al., 2023).

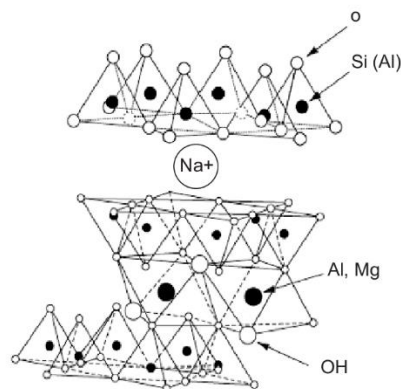


Figura 3. Estrutura lamelar da montmorilonita presente na bentonita sódica. Adaptado de Barbosa; Amorim; Ferreira (2007).

Para avaliar a influência dessa propriedade no cultivo, foram formuladas pastilhas com 2% e 5% de bentonita, além de um tratamento sem aditivo, e comparadas ao controle (arroz parboilizado). Os resultados de produção de esporos são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Produção de biomassa das formulações com bentonita	
Amostras	Esporos (g ⁻¹ ; média ± DP)
Arroz parboilizado (controle)	2,2 x 10 ⁹ ± 0,7 x 10 ⁸ A
Resíduo + 2% de bentonita sódica	1,4 x 10 ⁹ ± 0,1 x 10 ⁸ B
Resíduo + 5% de bentonita sódica	1,2 x 10 ⁹ ± 0,7 x 10 ⁸ C
Resíduo sem aditivo	3,0 x 10 ⁸ ± 0,1 x 10 ⁸ D

Os valores representam média ± desvio padrão. Médias seguidas de letras distintas diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).

A diferença nos valores é refletida também no aspecto visual das pastilhas após o cultivo, evidenciando variações quanto à densidade micelial e esporulação (Figura 4).

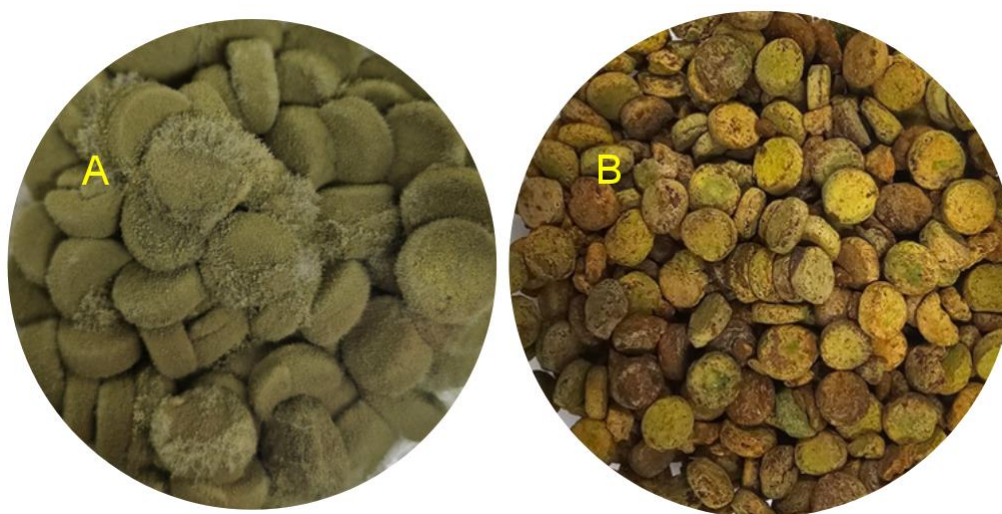


Figura 4. Aspecto das pastilhas após o cultivo de *Trichoderma harzianum*. (A) Pastilhas de resíduo contendo 2% de bentonita; (B) Pastilhas de resíduo sem aditivo.

A presença de bentonita exerceu impacto positivo na esporulação de *T. harzianum*. A formulação com 2% de bentonita apresentou desempenho superior ao substrato sem aditivos, resultando em produção de esporos próxima ao arroz parboilizado. Esse aumento pode ser atribuído às características físico-químicas da bentonita, como sua elevada capacidade de retenção hídrica e formação de uma

matriz coloidal semelhante a um gel. Essa propriedade contribui para maior estabilidade da umidade no substrato, condição essencial ao crescimento micelial em sistemas de fermentação sólida (Al-Taey *et al.*, 2023; Silva *et al.*, 2024; Yang *et al.*, 2024).

Ao comparar as formulações testadas com o controle (arroz parboilizado fresco), observa-se que, embora o desempenho do resíduo suplementado com 2% de bentonita não tenha alcançado o mesmo patamar, os valores obtidos aproximam-se do controle. Essa evidência demonstra que o reaproveitamento do resíduo de arroz, quando associado a estratégias de modificação física como a adição de bentonita, pode se tornar uma alternativa viável para reduzir a dependência do uso de arroz fresco na produção industrial de *Trichoderma*.

A formulação com 2% de bentonita apresentou produção de esporos significativamente maior do que o resíduo sem aditivos e desempenho próximo ao arroz parboilizado. Esse resultado pode ser atribuído à capacidade de hidratação interlamelar da bentonita, que mantém a umidade local e evita o ressecamento da matriz ao longo do cultivo, condição essencial para o crescimento micelial em fermentação sólida (Silva & Ferreira, 2008; Al-Taey *et al.*, 2023; Yang *et al.*, 2024).

Esses resultados estão em consonância com estudos prévios que destacam o potencial da bentonita como condicionador em sistemas de cultivo microbiano. Segundo Al-Taey *et al.* (2023), a argila favorece tanto a retenção de água quanto a atividade enzimática e a diversidade microbiana em substratos sólidos. A presente investigação reforça tais achados ao demonstrar que concentrações moderadas de bentonita (2%) são capazes de elevar significativamente a produtividade de esporos em substratos reaproveitados.

Do ponto de vista aplicado, o uso de bentonita representa uma alternativa de baixo custo e ampla disponibilidade, que pode contribuir para a otimização de biofábricas. Assim, a adição de bentonita configura-se como uma estratégia para aumentar a viabilidade do reuso do arroz em ciclos sucessivos de cultivo, aproximando o desempenho desse resíduo ao obtido com arroz fresco e ampliando as perspectivas de sustentabilidade no setor de bioinsumos.

3.5. Caracterizações do material

3.5.1. Análise Elementar

A análise elementar do arroz parboilizado e do resíduo de arroz buscou compreender a composição química dos materiais e avaliar se o primeiro ciclo de cultivo de microrganismos no arroz impacta a disponibilidade de nutrientes essenciais ao crescimento microbiano. Foram quantificados os teores de carbono (C), hidrogênio (H) e nitrogênio (N), elementos centrais para o metabolismo fúngico, tanto no arroz parboilizado) quanto no resíduo reaproveitado após cultivo inicial de *Trichoderma harzianum*. Os resultados estão apresentados na Tabela 5.

Substrato	Carbono (C)	Hidrogênio (H)	Nitrogênio (N)
Arroz parboilizado	41,46	7,38	1,15
Pastilhas de arroz reprocessado	41,21	6,98	0,99

Observou-se que os valores obtidos para C, H e N foram semelhantes entre os tratamentos, sugerindo que o resíduo mantém composição elementar suficientemente próxima à do arroz fresco, preservando seu potencial como substrato. O carbono, elemento predominante na matriz amilácea do arroz, manteve-se praticamente constante, o que indica que o resíduo ainda preserva carboidratos passíveis de serem metabolizados como fonte de energia em cultivos sucessivos. Já o hidrogênio apresentou uma discreta redução, possivelmente associada à perda de umidade e ao consumo de frações orgânicas durante a fermentação.

Essa constatação se alinha a resultados obtidos por Papagianni (2004), que indica que fungos filamentosos conseguem sustentar metabolismo ativo em substratos parcialmente esgotados, desde que a disponibilidade de carbono e nitrogênio permaneça em níveis mínimos adequados. Estudos recentes ressaltam que a proporção C/N exerce forte influência sobre a taxa de esporulação e a produtividade de metabólitos fúngicos (Li *et al.*, 2019). No presente trabalho, a relação C/N do resíduo (aproximadamente 41,6) manteve-se próxima à do arroz fresco (36,0), reforçando a ideia de que o material pode sustentar novos ciclos de cultivo sem necessidade imediata de suplementação nutricional.

Além da análise elementar, é importante considerar a composição do arroz em termos de macronutrientes estruturais, particularmente o amido, que constitui a

principal reserva energética do grão. O arroz parboilizado apresenta cerca de 80% de amido em sua composição (Lopes; Lopes, 2008). Entretanto, durante o processo fermentativo, parte desse amido é consumido pelo microrganismo, resultando em um decréscimo esperado no teor residual. De fato, Cunha (2020) relatou que, após a incubação e extração líquida de esporos, o arroz conidiado apresentou teor de amido reduzido para aproximadamente 67,5%. Essa observação reforça que o cultivo microbiano promove uma utilização substancial das reservas energéticas do substrato, ainda que mantendo níveis suficientes para sustentar ciclos adicionais de crescimento.

Portanto, embora as análises realizadas neste trabalho não tenham quantificado diretamente o teor de amido, a literatura sugere que essa redução está associada ao metabolismo do fungo durante a fermentação. Análises futuras relacionadas ao teor de amido, aliado à análise elementar, poderão fornecer uma visão mais abrangente sobre a dinâmica de consumo dos nutrientes ao longo dos ciclos de cultivo, contribuindo para otimizar a formulação de substratos e avaliar sua sustentabilidade em processos industriais.

3.5.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

No presente trabalho, a microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizada para comparar a superfície do arroz parboilizado com a superfície da formulação em pastilha elaborada a partir do resíduo reaproveitado. As imagens obtidas revelaram superfícies com morfologia irregular e presença de porosidades em ambos os tratamentos, apresentados na Figura 5 (arroz parboilizado) e na figura 6 (pastilha de resíduo).

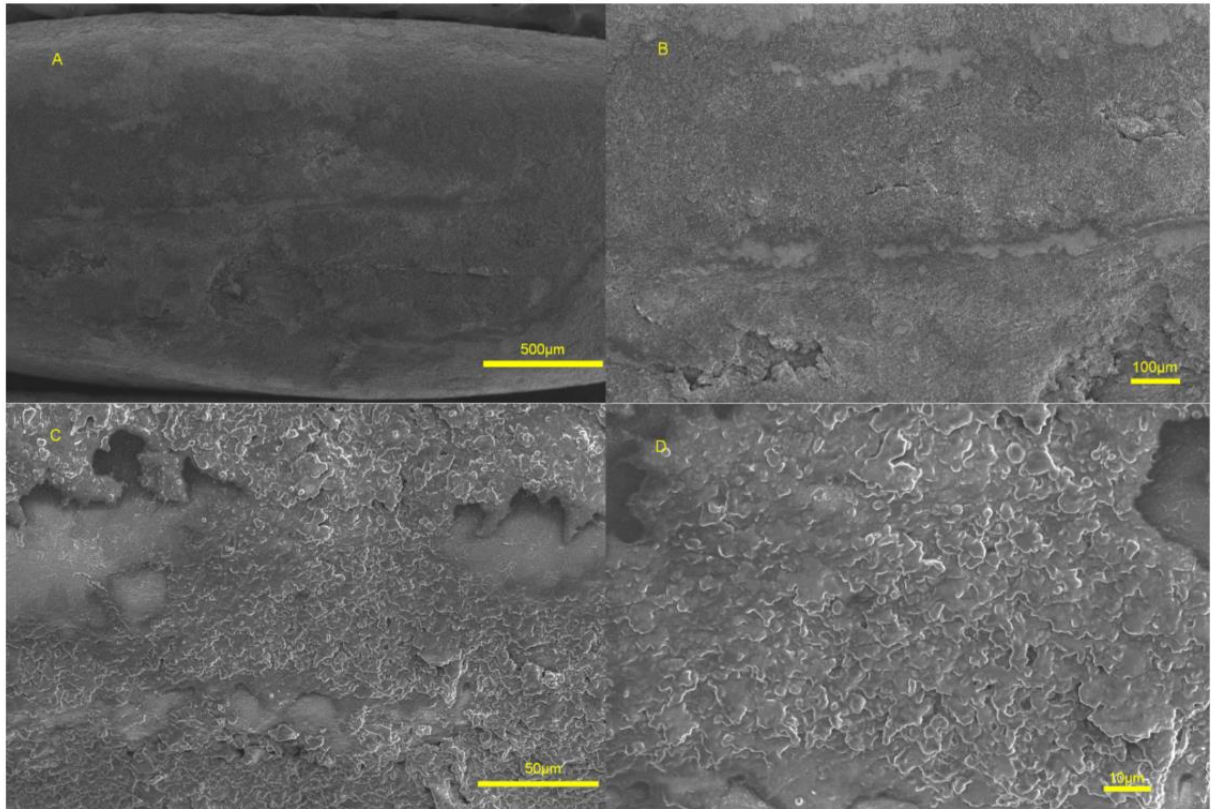


Figura 5. Micrografias de MEV da superfície do arroz parboilizado em diferentes resoluções.

No arroz parboilizado (Figura 5), a superfície apresentou estrutura granulada típica do grão parcialmente gelatinizado, com cavidades e fissuras que funcionam como pontos de ancoragem para o micélio. No caso da pastilha (Figura 6), embora a compactação do material durante o processo de prensagem tenha modificado a morfologia em comparação ao arroz parboilizado, as características de irregularidade e rugosidade foram preservadas em grau suficiente para permitir a adesão das hifas e garantir colonização satisfatória.

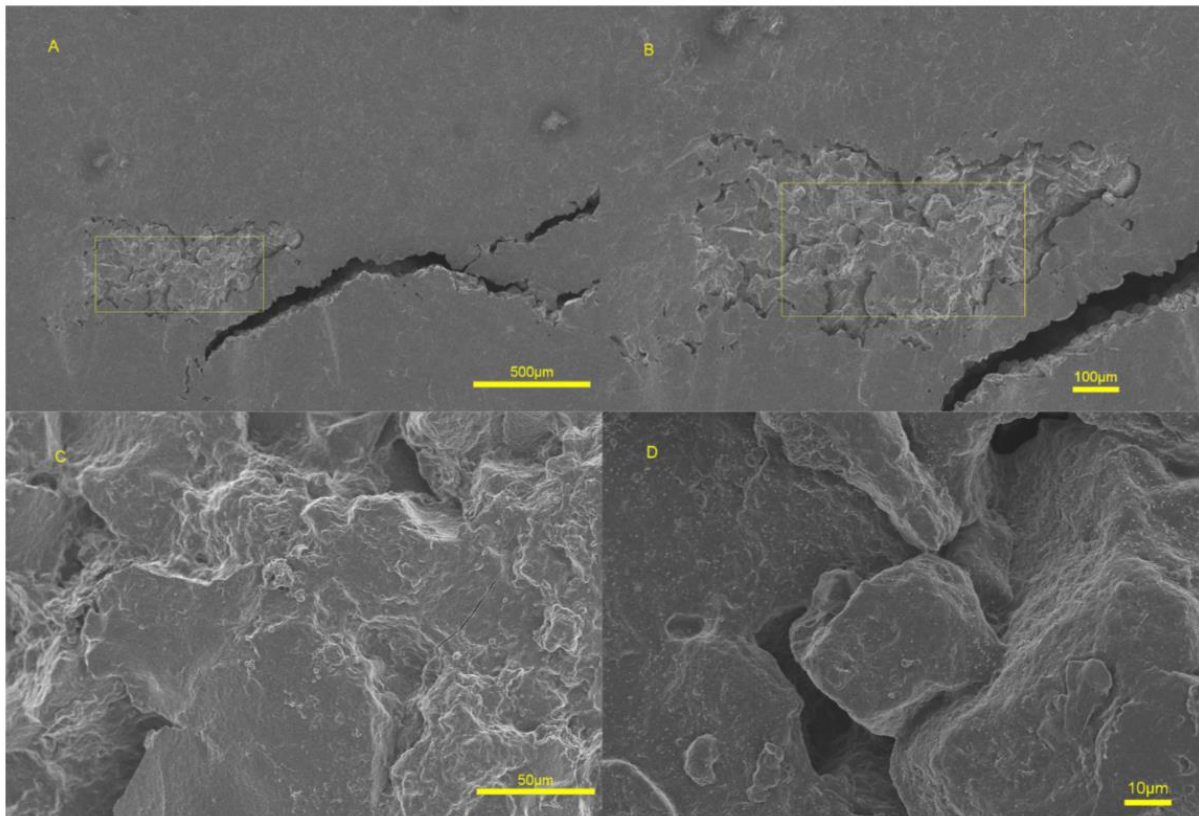


Figura 6. Micrografias de MEV da superfície do arroz reprocessado em diferentes resoluções.

Essas irregularidades desempenham papel importante no cultivo em estado sólido, uma vez que favorecem a fixação das hifas e ampliam a área disponível para absorção de nutrientes. A presença de porosidades e fissuras é particularmente relevante, pois substratos excessivamente compactos podem dificultar a difusão de oxigênio, elemento indispensável ao crescimento de fungos aeróbicos como *Trichoderma* spp.. Estudos prévios destacam que a porosidade do substrato está diretamente associada à intensidade da colonização fúngica, sendo que superfícies mais irregulares favorecem a formação de biofilmes miceliais e a subsequente esporulação (Wang *et al.*, 2020).

De forma geral, os achados de MEV reforçam a manutenção da superfície irregular e porosa após o reprocessamento, confirmando que a transformação do arroz residual em pastilhas prensadas não compromete suas propriedades físicas essenciais para o cultivo em estado sólido.

3.5.3. Ângulo de Contato

A análise do ângulo de contato foi realizada para avaliar a molhabilidade da superfície do substrato, característica que exerce influência direta sobre a adesão celular e a disponibilidade de água para os microrganismos durante o cultivo em estado sólido.

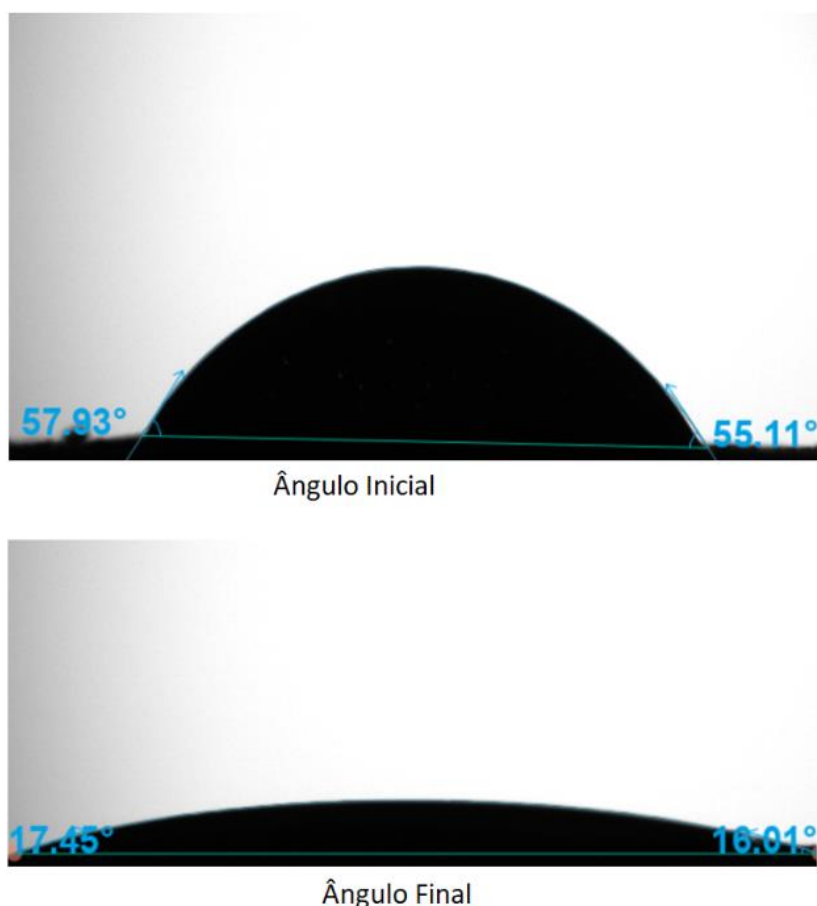


Figura 7. Ângulo de contato da pastilha de resíduo no instante inicial (A) e após 10 s (B). A redução do ângulo indica o comportamento hidrofílico da superfície.

Os resultados obtidos demonstraram que a superfície das formulações apresentou comportamento marcadamente hidrofílico. O ângulo inicial foi em média de 55°, como mostra a Figura 4. Após 10 segundos, esse valor foi reduzido para aproximadamente 15°, evidenciando rápida absorção da água pelo substrato. Esse comportamento está associado à natureza amilácea do arroz, que contém grupos hidroxila em suas cadeias poliméricas de amido, capazes de estabelecer ligações de hidrogênio com as moléculas de água, facilitando sua difusão no material.

A molhabilidade observada é desejável para processos fermentativos pois favorece a manutenção da umidade no microambiente do substrato e promove

condições adequadas ao metabolismo microbiano. Conforme apontado por Wang *et al.* (2020), a presença de superfícies hidrofílicas contribui para maior eficiência na colonização fúngica, sendo um fator importante para o desenvolvimento das hifas. A literatura destaca que superfícies com elevada afinidade à água tendem a facilitar a fixação de células microbianas e a formação de biofilmes estáveis, os quais desempenham papel essencial na produtividade em cultivos sólidos (Setiyawan *et al.*, 2023).

Enquanto a microscopia eletrônica de varredura destacou a presença de porosidades e irregularidades superficiais, esses resultados sugerem que essas mesmas microestruturas favorecem a difusão de água, ampliando a disponibilidade hídrica para o micélio.

3.5.4. Resistência mecânica

A resistência mecânica dos substratos é um parâmetro relevante em fermentação em estado sólido, pois está diretamente relacionada à porosidade, permeabilidade ao oxigênio e à capacidade de penetração das hifas. Estruturas muito compactadas podem restringir o crescimento micelial, enquanto matrizes mais friáveis tendem a favorecer a colonização e a esporulação.

Tabela 6 – Força de Ruptura Média (N)	
Pastilha de resíduo + 2% de bentonita	4,589
Pastilha de resíduo sem aditivo	3,398
Arroz parboilizado	8,117

A força de ruptura observada para o arroz parboilizado *in natura*, após ajuste de umidade por submersão, foi de 8,117 N, refletindo elevada rigidez estrutural e baixa friabilidade do grão. Em contraste, a pastilha produzida a partir do arroz reprocessado apresentou força de ruptura de 3,398 N, caracterizando uma matriz mais friável e porosa, condição que favorece a expansão micelial e a distribuição de umidade no leito de cultivo. A formulação contendo 2% de bentonita apresentou força intermediária de 4,589 N, situando-se entre o arroz reprocessado e o arroz parboilizado.

Essa resistência mecânica moderada sugere que a bentonita contribuiu para a coesão estrutural do substrato, porém sem comprometer totalmente sua porosidade. Esse equilíbrio é consistente com o comportamento visual observado nas pastilhas

cultivadas e com o aumento da produção de esporos nessa formulação. A propriedade de hidratação interlamelar da bentonita sódica, que forma microdomínios coloidais de retenção de água, provavelmente desempenhou papel importante na manutenção da umidade local, reduzindo o ressecamento e favorecendo a colonização micelial (Silva & Ferreira, 2008; Al-Taey et al., 2023).

4. Capítulo 4 – Conclusões

Os resultados obtidos demonstram que o arroz residual previamente utilizado como substrato no cultivo de *Trichoderma harzianum* pode ser reaproveitado através de reprocessamento para voltar ao ciclo de fermentação em estado sólido. O reprocessamento do substrato manteve viabilidade esporulante e proporcionou níveis significativos de produção de biomassa após o primeiro ciclo.

A adição de 2% de bentonita sódica ao resíduo promoveu melhor equilíbrio entre porosidade, retenção de umidade e coesão estrutural, resultando em maior produtividade de esporos quando comparada ao resíduo sem aditivo e apresentando desempenho próximo ao substrato controle (arroz parboilizado). Esse efeito está associado às propriedades de hidratação interlamelar da montmorilonita, capazes de estabilizar a disponibilidade hídrica no microambiente de cultivo.

Assim, o reaproveitamento do arroz residual aliado à modificação física da matriz configura-se como uma estratégia viável, sustentável e de baixo custo, reduzindo o consumo de arroz fresco nas biofábricas e contribuindo para a maior eficiência de processos de produção de bioinsumos.

Do ponto de vista aplicado, este trabalho abre caminho para o desenvolvimento de formulações sólidas estáveis e dispersíveis em água, baseadas em pastilhas produzidas a partir do resíduo. Tais formulações apresentam potencial para facilitar o armazenamento, o manuseio e a aplicação direta no campo, estimulando a adoção de agentes biológicos de controle por produtores rurais.

Em síntese, os resultados reforçam a importância do reaproveitamento de resíduos agroindustriais na promoção de processos produtivos mais eficientes e alinhados às demandas contemporâneas da agricultura sustentável, fortalecendo a consolidação dos bioinsumos como ferramentas estratégicas no manejo integrado e na redução da dependência de insumos químicos.

5. Referências Bibliográficas

AGÊNCIA FAPESP. Registro de produtos para controle biológico de pragas ultrapassa o de agroquímicos no Brasil. 2024. Disponível em: <https://agencia.fapesp.br/registro-de-produtos-para-controle-biologico-de-pragas-ultrapassa-o-de-agroquimicos-no-brasil/51431>. Acesso em: 31 mar. 2025.

AGROLINK. Bioinsumos já dominam 11,3% do mercado global. 12 jul. 2025. Disponível em: https://www.agrolink.com.br/noticias/bioinsumos-ja-dominam-11-3--do-mercado-global_499689.html. Acesso em: 14 ago. 2025.

AL-TAEY, D. K. A.; HUSSAIN, A. J.; KADHUM, H. J. Bentonite impact on soil properties and biological activity in the face of drought: a review. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, v. 1262, n. 4, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1262/4/042058>.

ALYOKHIN, A.; CHEN, Y. H. Adaptation to toxic hosts as a factor in the evolution of insecticide resistance. Current Opinion in Insect Science, v. 21, p. 33–38, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cois.2017.04.006>.

FERREIRA, C. M.; BARRIGOSI, J. A. F. (eds. téc.). Arroz e feijão: tradição e segurança alimentar. Brasília, DF: Embrapa, 2021. 164 p. ISBN 978-65-87380-27-8.

ASAD, S. A. Mechanisms of action and biocontrol potential of Trichoderma against fungal plant diseases: a review. Ecological Complexity, v. 49, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecocom.2021.100978>.

BARBOSA, M.; AMORIM, L.; FERREIRA, H. Compostos poliméricos como aditivos de argilas bentoníticas. Cerâmica, v. 53, n. 326, p. 318–324, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0366-69132007000400004>.

BETTIOL, W. Biopesticide use and research in Brazil. Outlooks on Pest Management, v. 22, n. 6, p. 280–284, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1564/22dec10>.

BETTIOL, W. et al. Metodologia para controle de qualidade de produtos biológicos à base de Trichoderma. Brasília, DF: Embrapa, 2013. Disponível em:

https://cnpma.embrapa.br/down_site/forum/2013/trichoderma/ApostilaTrichoderma2013.pdf. Acesso em: 13 abr. 2025.

BRASIL. Lei nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998. Brasília, DF: Presidência da República, 1998. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l9610.htm. Acesso em: 1 abr. 2025.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Mercado de biodefensivos cresce em mais de 50% no Brasil. 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/feffmercado-de-biodefensivos-cresce-em-mais-de-50-no-brasil>. Acesso em: 1 abr. 2025.

CANDO-NARVÁEZ, A.; LOERA, O.; MÉNDEZ-HERNÁNDEZ, J. E. Rice recycling: a simple strategy to improve conidia production in solid-state cultures. *Letters in Applied Microbiology*, v. 74, n. 3, p. 385–394, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1111/lam.13614>.

CAVALCANTE, R. S. et al. Effect of moisture on *Trichoderma* conidia production on corn and wheat bran by solid state fermentation. *Food and Bioprocess Technology*, v. 1, p. 100–104, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11947-007-0034-x>.

CHEN, X.; LU, Y.; LIU, X.; GU, Y.; LI, F. *Trichoderma*: dual roles in biocontrol and plant growth promotion. *Microorganisms*, v. 13, 1840, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms13081840>.

CNA – CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL. PIB brasileiro fecha 2024 com alta de 3,4%; agropecuária registra queda em razão de adversidades climáticas. 11 mar. 2025. Disponível em: <https://www.cnabrasil.org.br/publicacoes/pib-brasileiro-fecha-2024-com-alta-de-3-4-agropecuaria-registra-queda-em-razao-de-adversidades-climaticas>. Acesso em: 14 ago. 2025.

COOK, R. J.; BAKER, K. F. *The nature and practice of biological control of plant pathogens*. St. Paul: APS, 1983. 539 p. ISBN 978-0-89054-053-4.

CROPLIFE BRASIL. Mercado de bioinsumos cresceu 15% na safra 2023/2024. 25 jun. 2024. Disponível em: <https://croplifebrasil.org/mercado-de-bioinsumos-cresceu-15-na-safra-2023-2024/>. Acesso em: 14 ago. 2025.

CROPLIFE BRASIL. Adoção de bioinsumos cresceu 13% na safra 2024/2025. 26 jun. 2025. Disponível em: <https://croplifebrasil.org/adocao-de-bioinsumos-cresceu-13-na-safra-2024-2025/>. Acesso em: 14 ago. 2025.

CUNHA, L. P. da; CASCIATORI, F. P.; VICENTE, I. V.; GARCIA, R. L.; THOMÉO, J. C. *Metarhizium anisopliae* conidia production in packed-bed bioreactor using rice as substrate in successive cultivations. *Process Biochemistry*, v. 97, p. 104–111, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.07.002>.

DE LA CRUZ QUIROZ, R. et al. Solid-state fermentation in the production of secondary metabolites: A review. *Journal of Bioprocessing & Biotechniques*, v. 5, n. 2, p. 1–8, 2015. DOI: <https://doi.org/10.4172/2155-9821.1000209>.

EMBRAPA. Brasil é o quarto maior produtor de grãos e o maior exportador de carne bovina do mundo, diz estudo. 1 jun. 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/62619259/brasil-e-o-quarto-maior-produtor-de-graos-e-o-maior-exportador-de-carne-bovina-do-mundo-diz-estudo>. Acesso em: 14 ago. 2025.

FARINAS, C. S. Developments in solid-state fermentation for the production of biomass-degrading enzymes for the bioenergy sector. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 52, p. 179–188, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.07.092>.

FAVARO, C. P. et al. Bio-based composite granules with simultaneous biocontrol and phosphorus fertilization roles: outcomes from a lab-scale in vitro assessment. *Biotechnology Progress*, v. 38, n. 3, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/btpr.3242>.

FERREIRA, H. S. Estrutura e propriedades das argilas bentoníticas. *Química Nova*, v. 32, n. 3, p. 742–748, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000300022>.

FONTES, E. M. G.; VALADARES-INGLIS, M. C. (eds. téc.). Controle biológico de pragas da agricultura. Brasília, DF: Embrapa, 2020. 510 p. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1121825/1/CBdocumento.pdf>. Acesso em: 14 ago. 2025.

FORBES BRASIL. Uso de bioinsumos na agricultura brasileira cresce 13% na safra 2024/25. 15 mai. 2025. Disponível em: <https://forbes.com.br/forbesagro/2025/05/uso-de-bioinsumos-na-agricultura-brasileira-cresce-13-na-safra-2024-25/>. Acesso em: 14 ago. 2025.

GOMES, E. V. et al. The Cerato-Platanin protein Epl-1 from *Trichoderma harzianum* is involved in mycoparasitism, plant resistance induction and self-cell wall protection. *Scientific Reports*, v. 5, 17998, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep1799>.

HARMAN, G. E. et al. *Trichoderma harzianum* enhances antioxidant defense of tomato seedlings and resistance to water deficit. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, v. 25, n. 9, p. 1264–1271, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1094/MPMI-09-11-0240>.

HERMOSA, R. et al. Secondary metabolism and antimicrobial metabolites of *Trichoderma*. In: GUPTA, V. K. et al. (eds.). *Biotechnology and biology of Trichoderma*. Amsterdam: Elsevier, 2014. p. 125–137. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59576-8.00010-2>.

HEWAVITHARANA, N.; KANNANGARA, S. D. P.; SENANAYAKE, S. P. Isolation, identification and mass production of five *Trichoderma* spp. on solid and liquid carrier media for commercialization. *International Journal of Applied Science and Biotechnology*, v. 6, n. 4, p. 285–293, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3126/ijasbt.v6i4.22128>.

HÖLKER, U.; HÖFER, M.; LENZ, J. Biotechnological advantages of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 64, n. 2, p. 175–186, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1504-3>.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção agropecuária no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, [s.d.]. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/>. Acesso em: 31 mar. 2025.

IBAMA – INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Relatórios de comercialização de agrotóxicos. Brasília, DF: IBAMA, [s.d.]. Disponível em: <https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos>. Acesso em: 14 ago. 2025.

INTERNATIONAL PLANT PROTECTION CONVENTION. Scientific review of the impact of climate change on plant pests. Rome: FAO on behalf of the IPPC Secretariat, 2022. DOI: <https://doi.org/10.4060/cb4769en>.

KRISHNA, C. Solid-state fermentation systems—An overview. *Critical Reviews in Biotechnology*, v. 25, p. 1–30, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1080/07388550590925383>.

LIMBERGER, L. Como o Brasil se tornou o maior produtor e consumidor de produtos de biocontrole. *Revista Cultivar*, 2022. Disponível em: <https://revistacultivar.com.br/artigos/como-o-brasil-se-tornou-o-maior-produtor-e-consumidor-de-produtos-de-biocontrole>. Acesso em: 31 mar. 2025.

LI, K.; ZHAO, L.; LI, Y.; et al. Carbon-to-nitrogen ratio regulates fungal sporulation and secondary metabolism. *Frontiers in Microbiology*, v. 10, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00444>.

LIN, J.-H. et al. Factor analysis of the functional properties of rice flours from mutant genotypes. *Food Chemistry*, v. 126, n. 3, p. 1108–1114, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.140>.

LOPES, A. de M.; LOPES, M. F. de L. Aspectos qualitativos e nutricionais do arroz. [S.l.: s.n.], 2008.

MASCARIN, G. M. et al. Produção industrial de *Trichoderma*. In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. (org.). *Trichoderma: uso na agricultura*. Brasília, DF: Embrapa, 2019. cap. 8, p. 255–272. ISBN 978-85-7035-943-8.

MASTOURI, F.; BJÖRKMAN, T.; HARMAN, G. E. *Trichoderma harzianum* enhances antioxidant defense of tomato seedlings and resistance to water deficit. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, v. 25, n. 9, p. 1264–1271, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1094/MPMI-09-11-0240>.

MITCHELL, D. A. et al. New developments in solid-state fermentation: II. Rational approaches to the design of bioreactors. *Process Biochemistry*, v. 35, n. 10, p. 1211–1225, 2000. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(00\)00153-3](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(00)00153-3).

MORÁN-DIEZ, M. E. et al. TvDim1 of *Trichoderma virens* is involved in redox-processes and confers resistance to oxidative stresses. *Current Genetics*, v. 56, p. 63–73, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00294-009-0280-8>.

MUNIZ, P. H. P. C. et al. Produção de conídios em substrato sólido e colonização superficial por *Trichoderma harzianum*. *Revista de Agricultura Neotropical*, v. 5, n. 4, p. 40–44, 2018. ISSN 2358-6303.

NCHU, F. Sustainable biological control of pests: the way forward. *Applied Sciences*, v. 14, 2669, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/app14072669>.

PACHECO, L. B. et al. Produtos biológicos no mercado brasileiro para promoção de crescimento de plantas. In: *Ciências Biológicas: fundamentos da vida e biodiversidade 2*. Ponta Grossa: Atena, [2025]. cap. 8, p. 76–92. DOI: <https://doi.org/10.22533/at.ed.619122502018>.

PAPAGIANNI, M. Fungal morphology and metabolite production in submerged mycelial processes. *Biotechnology Advances*, v. 22, n. 3, p. 189–259, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2003.09.005>.

PHAM, T. A.; KIM, J. J.; KIM, K. Optimization of solid-state fermentation for improved conidia production of *Beauveria bassiana* as a mycoinsecticide. *Mycobiology*, v. 38, n. 2, p. 137–143, 2010. DOI: <https://doi.org/10.4489/MYCO.2010.38.2.137>.

POSADA-FLÓREZ, F. J. Production of *Beauveria bassiana* fungal spores on rice to control the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, in Colombia. *Journal of Insect Science*, v. 8, art. 41, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1673/031.008.4101>.

SARGIN, S.; GEZGIN, Y.; ELTEM, R.; VARDAR, F. Micropropagule production from *Trichoderma harzianum* EGE-K38 using solid-state fermentation and a comparative study for drying methods. *Turkish Journal of Biology*, v. 37, p. 139–146, 2013. DOI: <https://doi.org/10.3906/biy-1206-32>.

SETIYAWAN, A. S. et al. Effects of different polymeric materials on the bacterial attachment and biofilm formation in anoxic fixed-bed biofilm reactors. *Water, Air, & Soil Pollution*, v. 234, n. 3, 2023. 147. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11270-023-06174-2>.

SILVA, L. G. et al. Innovative sustainable bioreactor-in-a-granule formulation of *Trichoderma asperelloides*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 108, n. 458, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-024-13261-9>.

SILVA, R. C.; FERREIRA, H. S. Comportamento de hidratação e expansão da montmorilonita em sistemas aquosos. *Cerâmica*, v. 54, n. 332, p. 451–456, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0366-69132008000400015>.

SINGHANIA, R. R. et al. Recent advances in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, v. 44, p. 13–18, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.10.019>.

TESTER, R. F.; DEBON, S. J. J. Annealing of starch—a review. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 27, n. 1, p. 1–12, 2000. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(99\)00121-X](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(99)00121-X).

THANGARAJ, P.; BALAMURALI, A. S.; MUTHUSAMY, N. Biological control of *Trichoderma* spp.: mechanisms of action against phytopathogens, insect pests, and its multifaceted roles in agro-ecosystems. *Environment Conservation Journal*, v. 26, n. 1, p. 302–314, 2025. DOI: <https://doi.org/10.36953/ECJ.28922909>.

VINALE, F. et al. A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v. 72, n. 1–3, p. 80–86, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2008.05.005>.

WANG, X. et al. Research advances in chemical modifications of starch for hydrophobicity and its applications: a review. *Carbohydrate Polymers*, v. 240, 116292, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116292>.

WOO, S. L.; HERMOSA, R.; LORITO, M.; MONTE, E. *Trichoderma*: a multipurpose, plant-beneficial microorganism for eco-sustainable agriculture. *Nature Reviews Microbiology*, v. 21, p. 312–326, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00819-5>.

YANG, L.; HU, X.; QIN, Z. Substrato rígido aumenta a taxa de crescimento do micélio na superfície. *MRS Bulletin*, v. 49, p. 1205–1216, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1557/s43577-024-00762-1>.

YAO, X.; GUO, H.; ZHANG, K.; ZHAO, M.; RUAN, J.; CHEN, J. Trichoderma and its role in biological control of plant fungal and nematode disease. *Frontiers in Microbiology*, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1160551>. Acesso em: 14 ago. 2025.

YU, S. et al. Physicochemical properties of starch and flour from different rice cultivars. *Food and Bioprocess Technology*, v. 5, p. 626–637, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0330-8>.

ZAMBENEDDI, L. et al. Revolução Verde: história e impactos no desenvolvimento agrícola. In: LIMA, F. de S. et al. (org.). *Agricultura e Agroindústria no Contexto do Desenvolvimento Rural Sustentável*. Guarujá, SP: Científica Digital, 2021. p. 370–377. E-book. ISBN 978-65-89826-97-2. DOI: 10.37885/210705219. Acesso em: 14 ago. 2025.