

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

AMANDA SILVESTRE CHIQUITES

DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES PARA CONTROLE
MICROBIOLÓGICO DE PRAGAS EM CULTURAS PARA
BIOCOMBUSTÍVEIS

SÃO CARLOS - SP

2025

AMANDA SILVESTRE CHIQUITES

DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES PARA CONTROLE
MICROBIOLÓGICO DE PRAGAS EM CULTURAS PARA BIOCOMBUSTÍVEIS

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos, para obtenção do título de bacharel em Engenharia Química.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Fernanda Perpétua Casciotori

SÃO CARLOS – SP

2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Departamento de Engenharia Química

Folha de aprovação

Assinatura dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Trabalho de Graduação da candidata Amanda Silvestre Chiquites, realizada em 08/12/2025:

Prof^a. Dr^a. Fernanda Perpétua Casciotori
Universidade Federal de São Carlos

MSc.. Fabíola Ribeiro de Oliveira
Ikove Agro

Prof^a. Dr^a. Mônica Lopes Aguiar
Universidade Federal de São Carlos

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, João e Gisélia, meu porto seguro, agradeço o amor incondicional, os conselhos, incentivos e confiança depositada em mim desde o início. Muito obrigada por sempre acreditarem em mim e no meu potencial (mesmo quando eu duvidava de mim mesma), por serem os melhores exemplos de honestidade, perseverança, carinho e cuidado que eu poderia ter e, principalmente, por sempre estarem no último vagão.

Ao meu irmão, Thiago, sou imensamente grata pelo companheirismo, pelo incentivo e pelas palavras certas nos momentos em que mais precisei. Você sempre foi e sempre vai ser meu exemplo, minha inspiração e meu engenheiro favorito.

Agradeço também à Maria e à Thaiza por todos os momentos juntas em São Carlos e por serem família tanto nos momentos mais difíceis quanto nos que eu “guardaria em um potinho”. Aproveito para incluir o Gabriel nesses agradecimentos, por ter se juntado a nós e completado nosso quarteto. Com vocês os trabalhos em grupo, as noites de estudo e as aulas foram muito mais leves e divertidas.

Não podia deixar de reservar um espaço para agradecer a Ana Laura, Anna Carolina, Bruno, Gabriele, Gabriel, Mariana e Nathielly, pelos mais de 10 anos de amizade e por sempre me apoiarem durante toda minha trajetória.

Ademais, agradeço à Prof^a. Dr^a. Fernanda Perpétua Casciatori por toda orientação, apoio, incentivo e paciência desde que começamos a iniciação científica em 2022. Obrigada por ser exemplo de professora, pesquisadora e pessoa.

Agradeço o apoio do Programa de Recursos Humanos da Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – PRH-ANP, suportado com recursos provenientes do investimento de empresas petrolíferas na Cláusula de PD&I da Resolução ANP nº 918/2023 (PRH39- Referente ao EDITAL nº1/2018/PRH-ANP e Novo EDITAL nº1/2025).” Este projeto teve o apoio financeiro da ANP, FAPESP (Projeto #2024/10494-5 e #2025/03311-4) e MCTI através da bolsa de iniciação científica concedida pelo programa PRH-39/UFSCar.

Por fim, sou profundamente grata à Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), ao Departamento de Engenharia Química (DEQ) e a todos os professores que fizeram parte desse caminho. Sinto-me privilegiada por ter tido a oportunidade de me tornar Engenheira Química em um ambiente de excelência e referência em qualidade de ensino.

RESUMO

Devido aos danos provocados pelo controle químico de pragas, o uso de agentes biológicos surge como uma alternativa sustentável. No entanto, essa prática ainda apresenta desafios tecnológicos, relacionados à obtenção de produtos mais eficientes e mais estáveis. Nesse sentido, o presente trabalho teve por objetivo realizar a extração do microrganismo, separando-o de seu substrato sólido, e desenvolver formulações utilizando como ingrediente ativo conídios do fungo *Trichoderma asperellum*. Para isso, o microrganismo foi recuperado a partir do arroz cultivado em estado sólido, seguido do desenvolvimento de formulações em cápsulas à base de alginato e em grânulos dispersíveis em água (WDG). As formulações obtidas foram avaliadas quanto à viabilidade ao longo do tempo e, no caso da formulação em alginato, quanto à eficácia em testes de antagonismo frente a fungos fitopatogênicos. A formulação em cápsulas de alginato apresentou, após 103 dias, concentração de $4,86 \times 10^8$ UFCs/gss, valor 5,8 vezes maior do que o obtido para uma amostra sem formulação e 1,2 vezes maior que outra formulada com uma quantidade menor de extrato líquido contendo o microrganismo. Os testes de antagonismo evidenciaram uma maior dominância do *T. asperellum* frente a fungos causadores de doenças em plantas, principalmente por mecanismos de competição. Além disso, embora a formulação em WDG não tenha promovido aumento da viabilidade, apresentou vantagens relevantes, como a manutenção do fungo na forma de conídios, ausência do crescimento micelial e potencial contribuição ao desenvolvimento da planta. Dessa forma, a formulação em cápsulas de alginato mostrou-se eficaz para o aumento da viabilidade do produto, enquanto ambas as formulações atenderam à necessidade de manter o microrganismo em sua forma desejada, em conídios, característica de interesse para aplicações agrícolas. Assim, as formulações desenvolvidas se apresentam como uma alternativa sustentável para ser utilizada como controle biológico de pragas. Adicionalmente, uma análise da digestibilidade do amido do arroz residual resultou em concentrações de glicose próximas a 4 g/L após 120 minutos, indicando seu potencial como fonte de açúcares para processos fermentativos, como a produção de etanol, sugerindo uma alternativa promissora para o aproveitamento desse resíduo e redução de custos de descarte.

Palavras-chave: Biocontrole. Fungo. *Trichoderma*. Viabilidade. Antagonismo. Digestibilidade.

ABSTRACT

Due to the damage caused by chemical pest control, the use of biological agents has emerged as a sustainable alternative. However, this practice still faces technological challenges related to obtaining more efficient and stable products. In this context, the present study aimed to extract the microorganism by separating it from its solid substrate and to develop formulations using conidia of the fungus *Trichoderma asperellum* as the active ingredient. With this objective, the microorganism was recovered from rice cultivated under solid-state conditions, followed by the development of formulations in alginate-based beads and water dispersible granules (WDG). The obtained formulations were evaluated in terms of viability over time and, in the case of the alginate formulation, for efficacy in antagonism tests against phytopathogenic fungi. The alginate beads formulation presented, after 103 days, a concentration of 4.86×10^8 CFU/gds, a value 5.8 times higher than that obtained for the non-formulated sample and 1.2 times higher than that of another formulation containing a lower amount of liquid extract with the microorganism. Antagonism tests evidenced a greater dominance of *T. asperellum* against fungi that cause plant diseases, mainly through competitive mechanisms. Furthermore, although the WDG formulation did not promote an increase in viability, it presented relevant advantages, such as maintenance of the fungus in the conidial form, absence of mycelial growth, and potential contribution to plant development. Thus, the alginate beads formulation proved to be effective in increasing product viability, while both formulations met the requirement of maintaining the microorganism in its desired conidial form, a characteristic of interest for agricultural applications. Therefore, the developed formulations represent a sustainable alternative for use in biological pest control. Additionally, an analysis of starch digestibility of residual rice resulted in glucose concentrations close to 4 g/L after 120 minutes, indicating its potential as a sugar source for fermentative processes, such as ethanol production, suggesting a promising alternative for residue valorization and reduction of disposal costs.

Keywords: Biocontrol. Fungus. *Trichoderma*. Viability. Antagonism. Digestibility.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Uso de pesticidas no Brasil, de 1990 a 2022, em toneladas.....	6
Figura 2. Diferentes agentes microbiológicos utilizados nos bioinsumos brasileiros.....	8
Figura 3. Conídios e conidióforos do fungo <i>Trichoderma harzianum</i>	14
Figura 4. Sintomas da murcha-de-fusarium em plantações.....	17
Figura 5. Sintomas da queima das bainhas nos colmos.....	18
Figura 6. Sintomas de antracnose em bagas de uva.	18
Figura 7. Sintomas de mofo branco do feijoeiro.	19
Figura 8. Esquema representativo da recuperação do agente biológico a partir do material seco cultivado.	24
Figura 9. Frascos agitados utilizados na extração do agente biológico a) maior, de volume igual a 1000 mL; b) menor, cujo volume é de 300 mL.	25
Figura 10. Esquema representativo da obtenção das formulações à base de alginato.	26
Figura 11. Esquema representativo da formulação WDG.....	29
Figura 12. Esquema representativo da obtenção da mistura enzimática.	30
Figura 13. Esquema representativo da metodologia de digestibilidade do amido para a amostra de arroz crua.....	31
Figura 14. Esquema representativo da metodologia de digestibilidade do amido para a amostra de arroz cozida.	32
Figura 15. Conídios visualizados em microscópio e câmara de Neubauer.	34
Figura 16. Concentração (UFCs/gss) ao longo do tempo (dias).	36
Figura 17. Formulação do microrganismo em cápsulas à base de alginato (Formulação 2).	39
Figura 18. Testes de antagonismo utilizando a Formulação 2. Na esquerda, teste contra <i>S. sclerotiorum</i> . Na direita, teste contra <i>Colletotrichum</i> sp.	40
Figura 19. Concentração (UFCs/gss) ao longo do tempo (WDG).	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Uso de pesticidas no mundo: quantidade total (em 1 mil toneladas).....	5
Tabela 2. Tipos de formulações microbianas.	12
Tabela 3. Principais componentes das formulações microbianas.....	13
Tabela 4. Capacidade de biocontrole de algumas espécies do gênero <i>Trichoderma</i>	15
Tabela 5. Produtos biológicos formulados à base de <i>Trichoderma</i> spp. e registrados no mercado brasileiro.	20
Tabela 6. Tipos de biocombustíveis e suas fontes de matéria-prima.	21
Tabela 7. Concentração de conídios e UFCs na amostra, por grama de sólido seco.....	34
Tabela 8. Viabilidade das amostras com e sem formulação ao longo de 103 dias.....	37
Tabela 9. Resultados obtidos para as formulações à base de alginato.....	37
Tabela 10. Viabilidade das amostras com e sem formulação (WDG) ao longo de 27 dias.	41
Tabela 11. Resultados obtidos para a formulação WDG.....	42
Tabela 12. Concentração de glicose e desvios para cada amostra analisada.....	43
Tabela 13. Valores ARD, ALD e após 4 horas, em mg/dL.	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALD	Amido lentamente digerível
AR	Amido resistente
ARD	Amido rapidamente digerível
ART	Açúcares redutores totais
C_0	Concentração inicial
CAGR	Compound Annual Growth Rate
CFU	Colony forming unit
CV	Coefficiente de variação
D_c	Diâmetro da placa Petri controle
DNS	Ácido 3,5-dinitrosalicílico
D_t	Diâmetro de crescimento do fitopatógeno
F1	Formulação 1
F2	Formulação 2
FAO	Food and Agriculture Organization
gds	Gram of dry solid
gss	Grams de sólido seco
HYV	High Yielding Variety
k	Constante de perda de viabilidade
MAPA	Ministério da Agricultura e Pecuária
ONU	Organização das Nações Unidas
PDA	Potato Dextrose Agar
PIRG	Percent Inhibition of Radial Growth
PNB	Programa Nacional de Bioinsumos
RAD	Relatório anual de desmatamento
rpm	Rotações por minuto
SC	Suspensão concentrada
t	Tempo
$t_{1/2}$	Tempo de meia-vida

UFCs	Unidades formadoras de colônias
WDG	Water Dispersible Granules
WP	Wettable Powder
σ	Desvio padrão

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVOS	4
3	REVISÃO DA LITERATURA	5
3.1	CONTROLE BIOLÓGICO DE PRAGAS AGRÍCOLAS	5
3.2	FORMULAÇÃO DE AGENTES BIOLÓGICOS	11
3.3	O GÊNERO <i>Trichoderma</i> spp. NO CONTROLE BIOLÓGICO	14
3.3.1	Mecanismos de Controle Biológico.....	15
3.3.2	Principais Doenças e Culturas Controladas Pelos Fungos do Gênero <i>Trichoderma</i> spp.....	16
3.3.3	Principais Produtos à Base de <i>Trichoderma</i> no Mercado.....	19
3.4	IMPORTÂNCIA DO CONTROLE BIOLÓGICO EM CULTURAS PARA BIOCOMBUSTÍVEIS.....	21
4	MATERIAIS E MÉTODOS	23
4.1	RECUPERAÇÃO DO AGENTE BIOLÓGICO ATIVO A PARTIR DO MATERIAL SECO CULTIVADO.....	23
4.2	FORMULAÇÃO DO MICRORGANISMO EM CÁPSULAS À BASE DE ALGINATO	25
4.3	TESTES DE ANTAGONISMO	28
4.4	FORMULAÇÃO WDG	28
4.5	ANÁLISE DA DIGESTIBILIDADE DO AMIDO	29
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1	RECUPERAÇÃO DO AGENTE BIOLÓGICO ATIVO A PARTIR DO MATERIAL SECO CULTIVADO.....	33
5.2	FORMULAÇÃO DO MICRORGANISMO EM CÁPSULAS À BASE DE ALGINATO E ANÁLISE DA VIABILIDADE	35
5.3	TESTES DE ANTAGONISMO	38
5.4	FORMULAÇÃO WDG	41

5.5	ANÁLISE DA DIGESTIBILIDADE DO AMIDO	43
6	CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	47
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

1 INTRODUÇÃO

Com o elevado crescimento populacional global nos últimos anos, criou-se um cenário de preocupação acerca da disponibilidade de alimento que seja capaz de abastecer toda a população. De acordo com o *World Population Prospects 2024* da ONU, estima-se que a população mundial atingirá 9,7 bilhões de pessoas em 2050, de forma que, para satisfazer as necessidades dessa elevada população, seria necessário aumentar por volta de 70% toda a produção de alimentos, considerando apenas o consumo humano. Ao levar em conta também o aumento da produção de biocombustíveis a partir de fontes como cana-de-açúcar, milho e outras, essa demanda aumentaria cada vez mais (FAO, 2012).

Além do crescimento populacional, outros fatores também reforçam os cuidados com a alta demanda por alimentos e a diminuição da perspectiva de garantia da segurança alimentar global, sendo alguns deles referentes às doenças provocadas nas plantas por insetos e microrganismos, a disponibilidade de terras cultiváveis e pandemias. A grande influência das doenças provocadas nas plantas sobre a preocupação acerca do fornecimento de alimentos se dá, principalmente, porque as infestações por pragas agrícolas e as doenças provocadas por bactérias, fungos e outros microrganismos estão relacionadas às maiores perdas de plantações e baixos rendimentos no campo, que também resulta em perda de lucratividade (JAGLAN et al., 2024).

Nesse contexto, foi necessário buscar alternativas que minimizem essas perdas e passem a trazer melhores rendimentos agrícolas e, conseqüentemente, maiores volumes de produção para abastecer a população, sem que haja a necessidade de expansão da área cultivada. Isso porque, de acordo com o Relatório Anual do Desmatamento (RAD), a prática de ampliação de terras agrícolas é atualmente responsável por mais de 97% de toda a perda de vegetação nativa no Brasil (MAPBIOMAS, 2024).

A partir da Revolução Verde, que teve seu auge e consolidação entre as décadas de 1960 e 1970, houve a disseminação de inúmeras novas tecnologias agrícolas que possibilitaram o aumento da produção de alimentos, tornando o sistema mais eficiente em relação ao tempo e ao custo necessário para a obtenção dos alimentos. Uma das tecnologias implementadas foi a utilização de sementes geneticamente modificadas, capazes de fornecer altos rendimentos (*High Yielding Variety – HYV*), melhores instalações de irrigação e equipamentos agrícolas aprimorados, além do uso de agrotóxicos químicos, que se tornou parte essencial no modelo agrícola, possuindo um papel importante para a obtenção de

elevados índices de produtividade, mas que levam a uma série de danos ao meio ambiente e à saúde humana (OCTAVIANO, 2010; JOHN; BABU, 2021).

Dentre os impactos negativos causados por eles, podem-se citar: problemas fitossanitários resultantes do desequilíbrio ecológico, alteração de forma negativa da comunidade microbiana do solo, contaminação de ecossistemas aquáticos, contaminação do ar, água e solo, além de provocar graves intoxicações alimentares, lesões em órgãos e até mesmo a morte em humanos (BELCHIOR et al., 2014). Além disso, o uso intensivo de produtos químicos pode provocar desequilíbrios ecológicos, especialmente entre insetos predadores e pragas, favorecendo a proliferação de determinadas espécies que atacam culturas específicas, resultando na necessidade de pesticidas cada vez mais potentes ou novos produtos, intensificando o ciclo de dependência química desses agrotóxicos e elevando ainda mais sua concentração no meio ambiente e os impactos negativos já citados anteriormente (JOHN; BABU, 2021)

Nesse viés, a utilização de bioinsumos tem se mostrado muito importante, uma vez que se trata de uma das estratégias de manejo mais sustentáveis existentes, tornando a produção agrícola mais ambientalmente amigável, ao reduzir impactos. Eles também são responsáveis por proporcionar um aumento da produtividade e qualidade dos produtos cultivados, elevando a segurança alimentar e agregando valor às plantações, além de diminuir custos com defensivos e fertilizantes, fazendo com que haja um aumento na lucratividade do produtor (BUENO et al., 2022).

Por isso, visando reduzir a carga química na agricultura, os bioinsumos têm sido cada vez mais utilizados, proporcionando um controle prolongado das pragas, baixa ou nenhuma toxicidade aos seres humanos, alta seletividade e eficiência na mortandade das pragas, apesar de ainda enfrentarem desafios tecnológicos em seu processo industrial, tais como a necessidade de aumento da eficiência de recuperação do agente ativo e da instabilidade das formulações (CZAJA et al., 2015).

Outro ponto importante acerca desses produtos é que o ciclo para o desenvolvimento de químicos é bem mais demorado que o ciclo para biológicos, além de apresentar um custo bem mais elevado (ZEM, 2021). Também é valioso salientar que o Brasil possui uma enorme biodiversidade, podendo utilizá-la para o desenvolvimento e produção de novos produtos de origem biológica, diminuindo a dependência de insumos (químicos) importados de outros países, uma vez que a maior parte de tudo que é utilizado no país é proveniente do mercado externo (FILHO, 2021).

Em relação ao mercado desses bioprodutos, pode-se dizer que seu crescimento está diretamente relacionado às pesquisas e desenvolvimento de agentes de controle biológico. Atualmente existem várias pesquisas acerca do assunto, mas ainda há uma escassez de relatórios e modelos de aplicação completos, sendo necessário propor medidas que fortaleçam a parceria entre institutos de pesquisa e empresas para que o tema seja cada vez mais discutido, desenvolvido e aplicado, aumentando cada vez mais sua relevância. Ademais, a coexistência entre os biopesticidas e pesticidas químicos também têm sido avaliada, podendo resultar em inúmeros benefícios e contribuindo para maior visibilidade dos bioinsumos. Com isso, espera-se um crescimento anual de cerca de 15% no uso desses agentes biológicos, com possibilidade de haver uma igualdade entre os mercados dos produtos químicos e biológicos por volta de 2040 a 2050, resultado da retirada de muitos agrotóxicos do mercado com o surgimento de regulamentações mais rigorosas para esses produtos, mas essa expectativa dependente da taxa de adesão dos países acerca do uso do biocontrole (DAMALAS; KOUTROUBAS, 2018).

Nesse cenário de expansão contínua, impulsionado por avanços regulatórios, demandas por sustentabilidade e pela necessidade de reduzir vulnerabilidades externas, os bioinsumos têm contribuído para a redefinição das bases da agricultura moderna, consolidando a adoção de soluções microbiológicas não apenas como uma tendência emergente, mas como uma estratégia fundamental para o futuro do setor agrícola.

Diante do exposto, o presente trabalho abordou o estudo e desenvolvimento de formulações para controle microbiológico de pragas em culturas agrícolas, especialmente naquelas usadas na produção de biocombustíveis, analisando fatores como viabilidade, facilidade de obtenção e estabilidade.

2 OBJETIVOS

O objetivo geral do presente trabalho foi desenvolver formulações utilizando como ingrediente ativo conídios do fungo *Trichoderma asperellum*, obtidos a partir de arroz cultivado fornecido pela empresa Agrivalle Brasil Ltda. Para tanto, teve-se como objetivos específicos:

- Realizar a extração do agente ativo, a partir do arroz cultivado seco, obtendo-se um extrato líquido;
- Determinar a concentração do extrato em conídios, por volume de líquido e por massa de sólido seco inicial;
- Testar formulações a partir do encapsulamento dos conídios, obtendo cápsulas à base de alginato, provenientes do extrato líquido;
- Testar formulações obtendo grânulos dispersíveis em água (WDG), provenientes do extrato líquido, onde estarão os esporos do fungo que será utilizado no controle microbiológico de pragas;
- Analisar as formulações obtidas, avaliando sua viabilidade, estabilidade e eficácia em testes de antagonismo contra fungos fitopatogênicos;
- Avaliar a digestibilidade do amido no arroz residual e a possibilidade de seu aproveitamento para o setor de biocombustíveis.

3 REVISÃO DA LITERATURA

Este capítulo apresenta a fundamentação teórica necessária para o desenvolvimento deste trabalho, abordando o controle biológico de pragas agrícolas e sua importância para a sustentabilidade. São discutidos os desafios da substituição do controle químico, as expectativas em relação ao mercado de bioinsumos e os principais tipos de formulações de agentes biológicos. O capítulo também explora o papel dos fungos do gênero *Trichoderma* no controle de doenças e os produtos disponíveis no mercado, além da relevância do biocontrole em culturas para biocombustíveis, promovendo maior sustentabilidade agrícola e energética.

3.1 CONTROLE BIOLÓGICO DE PRAGAS AGRÍCOLAS

Insetos e microrganismos, tais como fungos, bactérias e vírus, são responsáveis por enormes perdas de produtividade nas plantações. Estima-se que mundialmente seja perdido cerca de 18% de toda a produção em decorrência somente de danos por insetos, sem considerar, ainda, as perdas por doenças, resultando no aumento do uso de inseticidas sintéticos desde a década de 1920 (CIVOLANI, 2025). A Tabela 1 apresenta um comparativo do uso de pesticidas mundialmente entre 1991 e 2015.

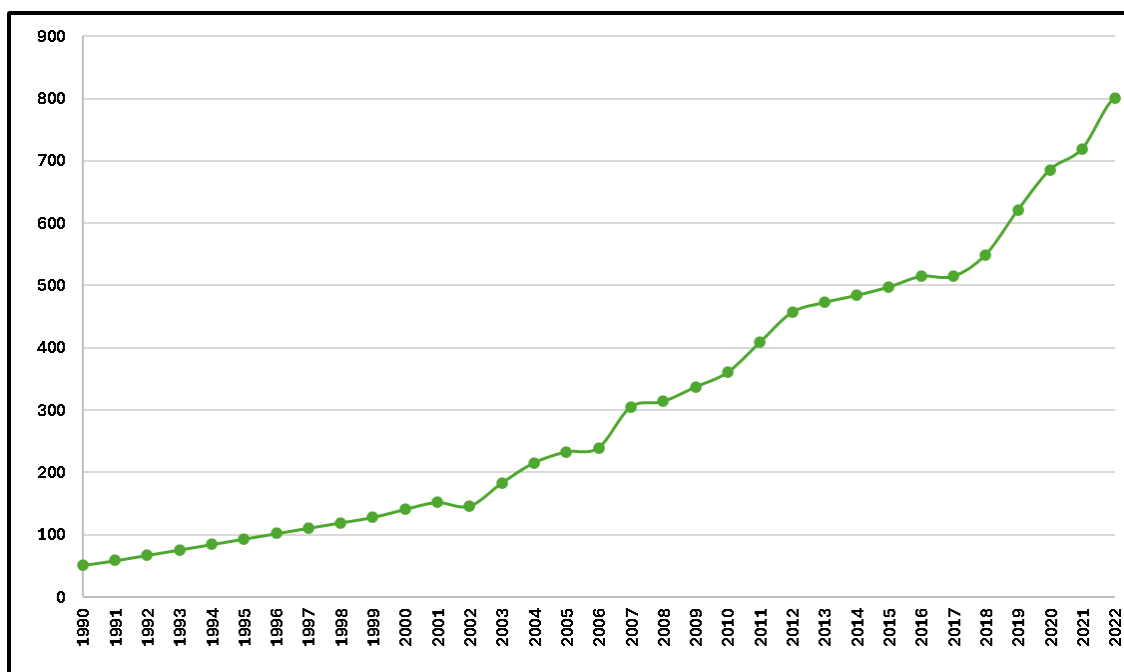
Tabela 1. Uso de pesticidas no mundo: quantidade total (em 1 mil toneladas).

	1991	1995	1999	2003	2007	2011	2015	% Total mundial
Argentina	26	41	63	63	77	112	208	5,1
Brasil	58	93	129	181	285	345	375	9,2
Paraguai	3	11	7	15	25	35	27	0,7
Uruguai	2	3	4	7	12	19	17	0,4
China	787	1.079	1.287	1.351	1.620	1.792	1.787	43,6
Índia	73	60	47	40	26	50	56	1,4
Japão	80	80	80	68	62	54	53	1,3
Canadá	29	32	42	35	45	66	76	1,8
EUA	396	427	429	420	391	391	408	9,9
México	27	27	27	16	47	52	46	1,1
Alemanha	31	29	33	35	41	43	47	1,1
França	95	90	107	78	76	62	71	1,7
Itália	93	80	82	88	78	68	61	1,5
Reino Unido	30	34	35	31	22	17	19	0,5
Mundo	2.290	2.675	3.034	3.150	3.583	3.953	4.098	-

Fonte: Adaptado de MORAES, 2019.

É possível notar que o Brasil, em 2015, já assumia uma posição relevante entre os maiores consumidores de pesticidas do mundo, o que demonstra a elevada importância deste insumo para o país, ainda mais considerando o papel fundamental do agro para a economia brasileira. A Figura 1 apresenta o crescimento do uso de pesticidas no Brasil ao longo dos anos e reforça a demanda progressiva desse produto no país.

Figura 1. Uso de pesticidas no Brasil, de 1990 a 2022, em toneladas.



Fonte: Adaptado de FAOSTAT, 2025.

No entanto, essa prática é extremamente prejudicial ao meio ambiente e à vida dos animais e seres humanos, fazendo com que já na década de 1960 começassem a surgir os primeiros efeitos do uso indiscriminado desses produtos químicos: o crescimento e desenvolvimento das aves começaram a ser prejudicados, bem como danos aos peixes e abelhas, levando a um alto número de mortes. Com isso alternativas mais ambientalmente amigáveis passaram a chamar atenção, como é o caso do controle biológico, que se destaca por controlar pragas agrícolas a partir do uso de seus inimigos naturais, ou seja, outros insetos e microrganismos benéficos, que não apresentam prejuízos ao meio ambiente e nem à saúde de animais e seres humanos (POVEDA, 2021).

Desse modo, o controle biológico tem se tornado muito relevante ao longo das últimas décadas, principalmente dado o cenário de crescente busca por medidas mais sustentáveis e que contribuam para atingir os objetivos de desenvolvimento sustentável da

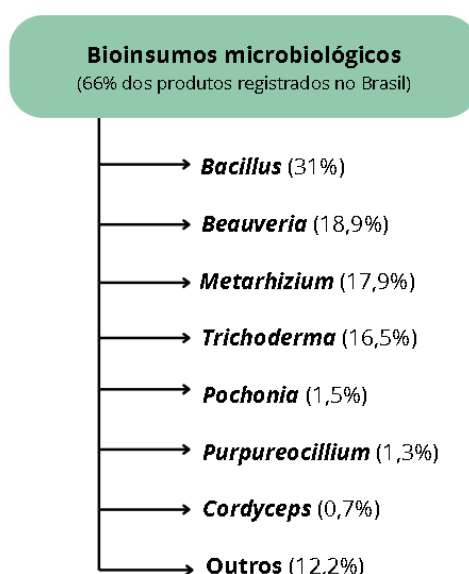
ONU, sendo um deles “erradicar a fome, alcançar a segurança alimentar, melhorar a nutrição e promover a agricultura sustentável” (OLIVEIRA, 2025; ONU, 2022).

Em resposta disso, observa-se um rápido crescimento do mercado de bioinsumos, cujo valor estimado em 2023 foi de US\$ 14 bilhões, com expectativa de atingir US\$ 44 bilhões até 2032, possuindo como líderes globais alguns exemplos como a Koppert, Corteva Agriscience, Syngenta, Bayer e BASF. A Europa e a América do norte representam a maior parcela em relação ao mercado de bioinsumos, sendo responsáveis por aproximadamente 60% do total, seguidas pela Ásia, América Latina e, com menor parcela, a África. (DELGADO et al, 2025; MARKET AND MARKETS, 2025; CROP LIFE, 2024).

Na América Latina, que possui uma participação de cerca de 15% no mercado de bioinsumos, o Brasil e a Argentina ganham destaque. Para o Brasil, atribui-se aproximadamente 6,5% do mercado global, com uma taxa média de crescimento anual (CAGR) de 21% para o período de 2021 a 2024, sendo quatro vezes acima do projetado para a média global (REUTERS, 2024; CROPLIFE BRASIL, 2025), cujo mercado está concentrado em grandes culturas de campo aberto, como soja, milho e cana-de-açúcar (DELGADO et al, 2025).

O mercado brasileiro possui disponível, em 2025, 546 produtos microbiológicos registrados e utilizados como controle de pragas, quantidade que representa cerca de 66% da totalidade de bioinsumos registrados no país. A Figura 2 mostra uma subdivisão dos agentes microbiológicos que podem ser encontrados nessas formulações disponíveis atualmente, com dados do AGROFIT/MAPA. Através dela, observa-se a grande parcela de participação das bactérias do gênero *Bacillus* nesse mercado, representando a base para a maior parte dos produtos existentes.

Figura 2. Diferentes agentes microbiológicos utilizados nos bioinsumos brasileiros.



Fonte: Adaptado de DELGADO et al, 2025.

O elevado número de produtos registrados no Brasil, bem como sua elevada taxa média de crescimento anual contaram com o apoio e impulsionamento essencial de um dos principais players do país, a Embrapa, que foi responsável por difundir o grande potencial econômico associado à utilização de bioinsumos na agricultura. Os avanços regulatórios e os incentivos governamentais, como o Plano ABC (Agricultura de Baixa Emissão de Carbono), de 2010, e o PNB (Programa Nacional de Bioinsumos), de 2011, também contribuíram para alavancar o setor ao incentivar o uso de insumos sustentáveis e facilitar o registro de biofertilizantes e inoculantes. Além disso, a dependência de fertilizantes químicos e defensivos importados tornou-se um risco para a agricultura brasileira, agravado por crises de oferta, instabilidades cambiais e conflitos geopolíticos que afetaram o fornecimento global, fortalecendo o interesse por alternativas nacionais e de maior sustentabilidade (DELGADO et al, 2025).

Desta maneira, diante do cenário de expansão contínua, impulsionado por avanços regulatórios, demanda por sustentabilidade e necessidade de diminuição de vulnerabilidades externas, torna-se evidente que os bioinsumos têm gradativamente contribuído para redefinir as bases da agricultura moderna, reforçando que a adoção crescente de soluções microbiológicas, além de representarem uma nova tendência, também fazem parte de um movimento estratégico para o futuro da agricultura.

Em se tratando do controle biológico de pragas, pode-se dividi-lo em etapas *upstream* e *downstream*. As operações em *upstream* possuem foco em produzir o microrganismo que será utilizado no controle biológico, realizando processos como a seleção, preparo e esterilização do meio de cultivo que melhor atenda às necessidades do agente que será cultivado, além de suprir com todos os nutrientes necessários para seu crescimento. Em relação às técnicas de *downstream*, consistem na separação do microrganismo de controle, contando com processos como secagem, separação e concentração, por exemplo (PACHECO, 2021). Nesse sentido, têm-se procurado maneiras de contribuir para um melhor *downstream*, permitindo um maior aproveitamento dos microrganismos, através da implementação de novas tecnologias que possam ajudar na estabilidade do agente ao ser aplicado no campo.

Para o processo de secagem, são propostos pela literatura métodos como a atomização via *spray dryer* ou liofilização (para cultivos submersos) e via estufa elétrica, tambor rotativo e leito fluidizado (para cultivos em estado sólido). Essas operações possuem o propósito de diminuir a umidade, proporcionando uma maior estabilidade ao microrganismo e deixando-o na sua forma latente, em um estado de atividades metabólicas mínimas, mantendo sua viabilidade por um período mais longo (PACHECO, 2021). A secagem por liofilização ocorre de forma que o produto, líquido ou sólido, seja congelado, formando-se gelo, que será sublimado a baixas pressões, abrindo espaço para a formação de poros, tornando o nível de umidade inferior a 2%. Por outro lado, a secagem por *spray dryer* é uma técnica que permite a secagem rápida, sendo realizada em uma câmara com ar aquecido (em temperaturas muito elevadas) ou algum outro agente de secagem, formando um particulado seco (EL-BACHÁ e KIM, 2014).

Um ponto favorável à liofilização é o fato de possuir capacidade de secar maiores quantidades de cultivo, embora possua um custo mais elevado que o *spray dryer*. Em contrapartida, para o cultivo em estado sólido, técnicas como secagem via estufa elétrica (que consiste em um sistema de injeção de ar por meio de turbinas movidas por motores elétricos), tambor rotativo (em que é realizada a secagem conforme o equipamento gira) e leito fluidizado (possuindo uma maior uniformidade de temperatura e umidade) são mais comumente utilizados, mas além deles também são realizados processos de moagem e separação dos esporos dos microrganismos (PACHECO, 2021).

A separação dos esporos de seus substratos pode ser realizada via peneira centrífuga, por suspensão ou a partir de processos de lavagem. A separação por peneira centrífuga depende do tamanho da partícula que se pretende formar e é realizada por meio de agitação

e alterando-se o tamanho dos poros. Além disso, têm-se a separação dos esporos no escoamento gasoso, que pode ser realizada combinando-se um ciclone ao leiteo fluidizado no processo de secagem. Já para os processos de separação utilizando processos de lavagem, estes ocorrem a partir de soluções de baixa atividade de água. Após a secagem e extração, deve-se partir para a formulação do produto, processo que pode ser facilitado e otimizado mantendo-se características do extrato que sejam favoráveis, como umidade residual, tamanho de partícula, densidade e concentrações (PACHECO, 2021).

Todavia, apesar de se mostrar promissor na substituição do manejo químico e na contribuição para práticas mais sustentáveis e ambientalmente amigáveis, o controle biológico de pragas ainda é limitado por diversos desafios tecnológicos, como a baixa estabilidade dos microrganismos em condições ambientais adversas, principalmente relacionadas a temperatura, radiação UV e umidade, além de encontrar barreiras regulatórias e comerciais que impactam na aprovação e no registro de novos produtos biológicos, restringindo o desenvolvimento dessas soluções e encarecendo ainda mais o processo como um todo. A aceitação do uso desses bioprodutos pelos agricultores também tem sido um empecilho para o ganho de popularidade ao alegarem que a substituição dos agrotóxicos químicos pelos biológicos apresenta ganhos financeiros pouco significativos/inexistentes, havendo a necessidade de procurar meios para convencer o público-alvo acerca dos benefícios dessa troca, sobretudo acerca da sustentabilidade (EL-SAADONY et al, 2022; ANDREATA et al, 2025).

Em adição aos desafios mencionados, a necessidade de produtos com carreadores, protetores e nutrientes específicos tem dado espaço para a demanda de formulações mais sofisticadas, que levam a maiores custos e tecnologias mais avançadas, mas que contribuem para a superação de entraves relacionados a estabilidade e viabilidade, com o objetivo de ampliar o uso comercial desses agentes de biocontrole (LIN et al, 2023).

À vista disso, o futuro do controle biológico está fortemente relacionado à incorporação de inovações tecnológicas e à integração com outras práticas agrícolas sustentáveis. Tendências atuais apontam para o uso de inteligência artificial e análise de dados em larga escala (Big data) voltadas para o machine learning, modelagens preditivas e algoritmos genéticos para modelar interações planta-microrganismo-ambiente na busca por espécies, cepas e genes com maior potencial de biocontrole (ANDREATA et al, 2025). Essas práticas contribuem para alavancar o mercado de biopesticidas, ainda mais considerando a busca por sistemas agrícolas mais resilientes e sustentáveis, principalmente em países agrícolas como o Brasil, de forma que o controle biológico tende a se consolidar como um

pilar central da agricultura moderna (CIVOLANI et al. 2025; DÍAZ-RODRIGUES et al, 2025).

No contexto brasileiro, a crescente busca por uma matriz energética mais sustentável, principalmente quando se diz respeito à produção de etanol (a partir de fontes como cana-de-açúcar e milho), corrobora com a necessidade de também incorporar sustentabilidade na produção dessas commodities, sendo o uso do controle biológico uma maneira de se atingir esse objetivo, reduzindo as perdas no campo e aumentando a produtividade agrícola e reduzindo a pegada de carbono desses biocombustíveis ao substituir o uso de insumos químicos (que possuem amplo consumo de energia fóssil na sua síntese, formulação e transporte) e ao proporcionarem uma menor emissão de CO₂ na sua produção.

3.2 FORMULAÇÃO DE AGENTES BIOLÓGICOS

O desenvolvimento de formulações que proporcionem produtos mais eficientes e práticos para serem utilizados como agentes de controle biológico se torna indispensável para o avanço das tecnologias de biocontrole. Essa formulação pode ser descrita como uma mistura estável e padronizada de componentes ativos e inertes, resultando em um produto simples, seguro e altamente eficaz, que seja capaz de atuar contra o patógeno alvo e, conseqüentemente, diminuir as perdas nas colheitas (JANGIR et al, 2021). A formulação atua como um sistema de proteção física e fisiológica que visa assegurar uma maior taxa de sobrevivência do microrganismo durante seu armazenamento, transporte e aplicação, almejando garantir uma liberação controlada no campo e transformando o que antes se tratava apenas do agente biológico vivo em um produto estável e viável comercialmente (EL-SAADONY et al, 2022).

Dessa forma, buscando-se facilitar a aplicação desses agentes de biocontrole, o método de produção em massa do agente, o desenvolvimento da formulação e a aplicação do produto obtido devem ser levadas em consideração e correspondem a etapas muito importantes para a obtenção do bioproduto final. Assim, realizar a formulação após a etapa de extração dos esporos, a fim de tornar o agente mais estável, resistente, eficiente e com um tempo de vida útil mais elevado, proporciona uma melhor aplicabilidade do microrganismo no campo (JANGIR et al, 2021).

Diversos tipos de formulações estão disponíveis atualmente, incluindo pós, grânulos, pellets, pequenas partículas úmidas, cápsulas, grânulos dispersíveis em água (WDG) e líquidos emulsionáveis, sendo que cada tipo de formulação possui suas vantagens e desvantagens. A formulação em pó, por exemplo, possui como desvantagens a sua difícil

pesagem e aplicação no campo, além de colocar a saúde do aplicador em risco. Por outro lado, a formulação de grânulos dispersíveis em água se mostra uma opção mais amigável ao meio ambiente, assim como às pessoas que realizarão sua aplicação. Além disso, o fato de ser dispersível em água trata-se de uma vantagem, já que esses agentes formulados serão utilizados em lavouras constantemente irrigadas, de forma que, ao entrar em contato com a água, o produto será dispersado e liberará o organismo para realizar o combate às pragas alvo (JANGIR et al, 2021). A Tabela 2 resume os principais tipos de formulações, trazendo uma breve descrição, bem como vantagens e/ou limitações.

Tabela 2. Tipos de formulações microbianas.

Tipo de Formulação	Descrição e características	Vantagens/Limitações
Pó molhável (WP – Wettable Powder)	Mistura seca de esporos ou células com carreadores sólidos e adjuvantes, reconstituída em água antes da aplicação	Alta estabilidade e fácil transporte, mas a reidratação pode reduzir a viabilidade
Suspensão concentrada (SC)	Células ou esporos suspensos em meio líquido concentrado e estabilizados com adjuvantes	Fácil aplicação direta via pulverização, mas exige condições controladas de armazenamento para evitar sedimentação
Grânulos dispersíveis em água (WDG)	Grânulos secos que dispersam rapidamente em água, gerando uma suspensão homogênea	Menor formação de pó e maior segurança ao aplicador, mas possui um custo de produção elevado
Microencapsulados/ Cápsulas poliméricas	Microrganismos envolvidos por filmes de polímeros biodegradáveis que controlam a liberação do ativo	Maior resistência térmica e à luz UV
Formulações líquidas	Mistura aquosa com microrganismos viáveis e aditivos estabilizantes	Facilidade de aplicação, mas shelf-life limitado e risco de contaminação

Fonte: Adaptado de EL-SAADONY et al, 2022; DÍAZ-RODRIGUES et al, 2025; LIN et al, 2023; CIVOLANI et al, 2025.

Para cada formulação realizada, são usados diferentes componentes para trazer melhores resultados, contribuindo para maior viabilidade, estabilidade e proteção ao microrganismo. A escolha adequada desses componentes influencia diretamente no comportamento do agente biológico após sua aplicação e ajuda a trazer uma maior previsibilidade da sua ação no campo e culturas nas quais o produto será aplicado. Para compreender melhor sobre os principais constituintes das formulações pode-se observar a Tabela 3.

Tabela 3. Principais componentes das formulações microbianas.

Componente	Função principal	Exemplos
Carreadores sólidos	Suporte físico para o microrganismo, facilitam transporte e aplicação	Talco, amido, turfa e argilas
Polímeros encapsulantes	Proteção mecânica e fisiológica aos microrganismos e promovem liberação controlada	Polímeros naturais e biodegradáveis (alginato e quitosana)
Adjuvantes e surfactantes	Melhoram molhabilidade, dispersão e aderência às superfícies vegetais	Óleos essenciais, lecitina e surfactantes naturais
Nutrientes e crioprotetores	Mantêm a viabilidade celular durante a secagem e armazenamento	Carboidratos (sacarose, glicose, melaço) e proteínas (leite em pó e extrato de levedura)
Protetores UV e estabilizantes	Reduzem danos por radiação solar e oxidação	Nanomateriais e compostos antioxidantes (carvão ativado e nanopartículas de sílica)

Fonte: Adaptado de EL-SAADONY et al, 2022; DÍAZ-RODRIGUES et al, 2025; LIN et al, 2023; CIVOLANI et al, 2025.

Dessa forma, existem diferentes componentes para serem utilizados e o tipo de formulação influenciará diretamente na escolha dos materiais a serem utilizados, além de

também ser necessário levar em conta a cultura na qual será aplicada, bem como o objetivo específico do uso desses produtos de controle biológico.

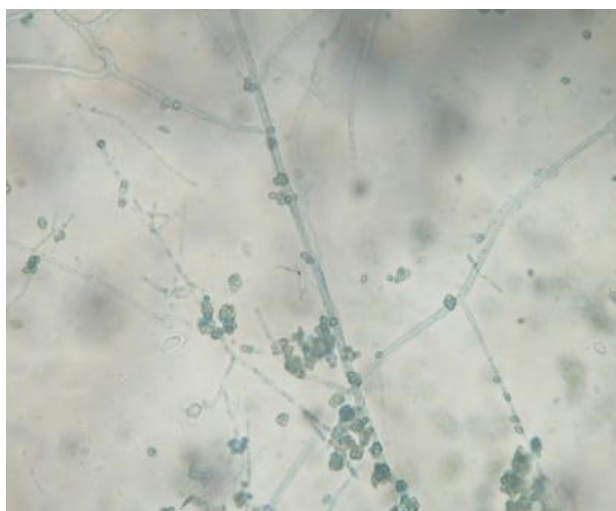
3.3 O GÊNERO *Trichoderma* spp. NO CONTROLE BIOLÓGICO

O primeiro relato que se tem acerca desse gênero de fungos surgiu em meados de 1794 por Persoon. Já em 1983, Cook e Baker descreveram-nos como “comuns habitantes de solo”, além de que, em 1986, 63 espécies já eram reconhecidas (MUKHOPADHYAY e KUMAR, 2020).

Os fungos do gênero *Trichoderma* são amplamente utilizados no controle biológico de pragas por serem muito benéficos para a agricultura. Esses fungos são filamentosos e possuem um crescimento rápido, característica que representa um ponto positivo. Além disso, são nocivos somente para outros organismos causadores de doenças, não conferindo risco para a saúde dos seres humanos e dos demais seres vivos. Atualmente, os fungos desse gênero correspondem a uma gama de cerca de 100 espécies que, dentre os pontos já citados, também se destacam pela habilidade de se adaptar diferentes substratos, contaminantes que possam estar presente no solo e condições ambientais diversas (POVEDA, 2021).

Eles costumam ser encontrados com facilidade em plantas em decomposição e, principalmente, em materiais celulósicos e são caracterizados por possuírem conidióforos ramificados de coloração branca e conídios de cor verde brilhante (MUKHOPADHYAY e KUMAR, 2020). A Figura 3 ilustra um exemplo de fungo do gênero *Trichoderma*.

Figura 3. Conídios e conidióforos do fungo *Trichoderma harzianum*.



Fonte: MUKHOPADHYAY e KUMAR, 2020 (Domínio Público)

Algumas espécies que ganham destaque dentro do gênero *Trichoderma* são: *T. harzianum*, *T. viride*, *T. atroviride*, *T. pseudokoningii*, *T. longibrachiatum*, *T. hamatum*, *T. polysporum*, *T. reesei* e *T. asperellum*, representando as mais importantes espécies e com alto potencial de antagonismo (MUKHOPADHYAY e KOMAR, 2020). A Tabela 4 traz a capacidade de biocontrole de algumas espécies desse gênero através de mecanismos de ação direta.

Tabela 4. Capacidade de biocontrole de algumas espécies do gênero *Trichoderma*.

Praga		Espécie do <i>Trichoderma</i>	Mecanismo de ação
Grupo	Espécie		
Ácaro	<i>Tetranychus urticae</i>	<i>T. asperellum</i>	Toxicidade por VOC 6-pentyl- α -pyrone
Inseto: Blattodea	<i>Odontotermes formosanus</i>	<i>T. viride</i>	Atividade repelente
Inseto: Hemiptera	<i>Cimex hemipterus</i>	<i>T. harzianum</i>	Parasitismo
Inseto: Diptera	<i>Aedes aegypti</i>	<i>T. harzianum</i>	Toxicidade por metabólitos secundários
Inseto: Coleoptera	<i>Xylotrechus arvicola</i>	<i>T. atroviride</i>	Parasitismo
Inseto: Lepidoptera	<i>Leucinodes orbonalis</i>	<i>T. longibrachiatum</i>	Parasitismo

Fonte: Adaptado de POVEDA, 2021

3.3.1 Mecanismos de Controle Biológico

Cada microrganismo atuante no controle biológico de pragas conta com um tipo de mecanismo de atuação no controle da praga alvo, variando tanto da espécie utilizada no biocontrole quanto da fitopatógeno que se deseja eliminar. Os três principais mecanismos

amplamente estudados e difundidos na literatura são o micoparasitismo, a antibiose, a competição e a indução de resistência na planta.

Quando se trata do micoparasitismo, é observada a ação direta sobre o fitopatógeno, de forma que o agente de controle atuará crescendo sobre outros organismos por meio da infecção, degradação enzimática e consumo dos nutrientes. Em específico para os fungos do gênero *Trichoderma*, este representa o mecanismo mais observado no controle biológico para este gênero, cuja ação geralmente ocorre com o fungo crescendo paralelo às hifas do fitopatógeno e depois enrolando-se e penetrando nelas, obtendo uma estrutura semelhante a um gancho e, portanto, provocando danos ao organismo que se deseja combater (MUKHOPADHYAY e KUMAR, 2020).

Já em relação à antibiose, esse mecanismo conta com a secreção de substâncias ao meio pelos agentes de biocontrole, que serão responsáveis por inibir o crescimento e o desenvolvimento dos fitopatógenos, podendo causar danos a eles, limitar a área de crescimento ou até mesmo levar essas pragas à morte. Dentre as substâncias que podem ser secretadas por eles encontram-se toxinas e uma ampla gama de antibióticos (MUKHOPADHYAY e KUMAR).

Ademais, no mecanismo de competição é possível observar que o microrganismo de controle e o fitopatógeno competirão entre si por nutrientes e espaço, de forma que o dano à alguma das espécies será por meio da falta desses recursos no meio ambiente, que afetará diretamente o crescimento e desenvolvimento dele (MUKHOPADHYAY e KUMAR).

Por fim, em relação à indução de resistência, observa-se que o sistema de defesa da planta hospedeira é ativada a partir do contato com o patógeno, cuja resposta pode ser hipertensiva, na forma de resistência induzida ou de maneira sistêmica adquirida (OLIVEIRA, 2025)

3.3.2 Principais Doenças e Culturas Controladas Pelos Fungos do Gênero *Trichoderma* spp.

Devido à elevada gama de espécies contemplando o gênero *Trichoderma* spp., é possível encontrar esses fungos atuando contra diversas doenças no campo, em uma vasta variedade de culturas, reforçando seu papel fundamental no controle biológico de pragas.

A fusariose, também conhecida como murcha-de-fusarium, é provocada pelo fungo *Fusarium oxysporum* e pode atacar diversas culturas como o tomate, morango, pepino, soja e diversas outras. Essa doença se destaca pelo amarelamento, murcha de folhas e necrose, podendo levar a planta à morte. Durante sua ação, esse fungo pode levar à perda de todas as

folhas da planta e, em casos em que não provoca a morte desses seres vivos, resultam em danos que afetam extremamente o seu crescimento, levando a perdas severas de produtividade no campo e prejuízos para os agricultores (MEYER et al, 2019). Ao atacar a cultura da soja, a infestação por tal fungo pode impactar negativamente a produção de biodiesel derivado desse óleo vegetal, principal matéria-prima para obtenção desse biocombustível no Brasil. A Figura 4 ilustra o principal sintoma provocado por essa doença.

Figura 4. Sintomas da murcha-de-fusarium em plantações.



Fonte: Koppert, 2025 (Domínio Público)

Outras doenças que também podem ser controladas biologicamente é a queima das bainhas e a podridão das raízes, provocadas pelo fungo *Rhizoctonia solani*, cujos alvos são as culturas de batata, tomate, feijão, alface e cereais como o arroz, por exemplo, uma base na alimentação de diversas famílias, mas que também pode possuir outros destinos, como a produção de etanol. Essas doenças provocam manchas ovaladas, elípticas ou arredondadas, de coloração branco-acinzentada e possuem maior dificuldade em seu tratamento, devido à formação de escleródios pelo patógeno, mas que tem sido eficientemente combatida pelos fungos do gênero *Trichoderma* (MEYER et al, 2019). Um exemplo dos danos provocados por esse microrganismo pode ser observado na Figura 5.

Figura 5. Sintomas da queima das bainhas nos colmos.



Fonte: Embrapa, 2025 (Domínio Público)

Os fungos do gênero *Colletotrichum* também recebe destaque como vilão nas culturas de morango, feijão, banana e diversas outras culturas, provocando uma doença chamada de antracnose, responsável por provocar manchas escuras nas plantações e reduzindo sua produtividade e qualidade. A ação do *Trichoderma* spp. no combate a essa doença se dá por meio de diversos mecanismos, como os de competição, antibiose e micoparasitismo já explicados anteriormente, mas também conta com a liberação de enzimas líticas e indução dos mecanismos de defesa do hospedeiro (MEYER et al, 2019). A Figura 6 evidencia as manchas escuras provocadas por essa doença.

Figura 6. Sintomas de antracnose em bagas de uva.



Fonte: Embrapa, 2025 (Domínio Público)

Por fim, outro exemplo de doença combatida por esses agentes é o mofo branco, causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, que atinge principalmente a soja, mas também

acomete culturas como o feijão, batata, tomate, ervilha e algodão. Assim como o *Rhizoctonia solani*, esses fungos também produzem escleródios (estruturas de sobrevivência), que resultam em muitos danos às plantações, de forma que o combate a esses patógenos ocorre principalmente no ataque à essas estruturas e degradando-as, sendo que o *Trichoderma* tem apresentado bons resultados no seu combate (MEYER et al, 2019). A ação desse fungo fitopatogênico está demonstrada na Figura 7.

Figura 7. Sintomas de mofo branco do feijoeiro.



Fonte: Embrapa, 2025 (Domínio Público)

Além das doenças citadas, existe uma ampla variedade de problemas que podem ser resolvidos utilizando esse agente de controle biológico tão importante e que possui uma enorme gama de espécies, comprovando ainda mais a importância desse gênero de fungos no controle biológico e nos problemas relacionados ao campo, de forma que, além de contribuírem para a redução das doenças, também evitam gastos excessivos com produtos químicos que causam prejuízos tanto para as plantas quanto para os seres humanos.

3.3.3 Principais Produtos à Base de *Trichoderma* no Mercado

Dado o cenário de aumento dos estudos acerca do controle biológico e da importância dessa prática no meio agrícola, houve uma elevação significativa do número de registros de produtos à base de *Trichoderma* no mercado brasileiro. A Tabela 5 mostra alguns exemplos de formulações com fungos desse gênero bastante utilizadas atualmente.

Tabela 5. Produtos biológicos formulados à base de *Trichoderma* spp. e registrados no mercado brasileiro.

Microrganismo	Produto (Empresa) e ano de registro	Formulação	Alvo
	Quality (Laboratório de Bio Controle Farroupilha Ltda)/2011	Granulado dispersível	<i>Fusarium solani f. sp. Phaseoli</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> e <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
<i>Trichoderma asperellum</i>	Organic WP (Laboratório de Bio Controle Farroupilha Ltda)/2016	Pó-molhável	<i>Fusarium solani f. sp. Phaseoli</i> e <i>Rhizoctonia solani</i>
	Trichodermax EC (Novozymes)/2011	Concentrado emulsionável	<i>Fusarium solani f. sp. Phaseoli</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> e <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
	Trichodermil Super SC 1306 (Koppert)/2019	Suspensão concentrada	<i>Fusarium solani f. sp. phaseoli</i> , <i>Pratylenchus zaeae</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> e <i>Thielaviopsis paradoxa</i>
<i>Trichoderma harzianum</i>	Triaction (Koppert)/2018	Grânulo dispersível	<i>Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici</i> e <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
	Trychonyd FR 25 (TZ Biotech)/2019	Gel emulsionável	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
	Rizoderma (Ballagro)/2019	Pó-molhável	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> e <i>Rhizoctonia solani</i>
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	Diamond (Farroupilha)/2018	Grânulo dispersível	<i>Heterodera glycines</i> , <i>Meloidogyne</i> e <i>Pratylenchus</i>
<i>Trichoderma stromaticum</i>	Tricovab (Ceplac)/2012	Pó-molhável	<i>Moniliophthora perniciosa</i>

Fonte: Adaptado de MEYER et al, 2019

3.4 IMPORTÂNCIA DO CONTROLE BIOLÓGICO EM CULTURAS PARA BIOCOMBUSTÍVEIS

A forte busca por novas fontes de energia, dado o cenário de elevado crescimento populacional e demanda por soluções que levam a menores emissões de CO₂ e menor dependência por combustíveis fósseis, tem gerado preocupações acerca da segurança alimentar, escassez de água e disponibilidade de terras agrícolas. A produção de biocombustíveis, nesse contexto, representa uma boa oportunidade na redução das emissões de CO₂ e no uso de recursos renováveis para a obtenção de energia, mas o uso de diversos tipos de plantações para a produção desses combustíveis renováveis compete com a produção de alimentos para consumo humano (MOIOLI et al, 2018). O cultivo de matérias-primas como cana-de-açúcar, milho, soja, palma, beterraba e sorgo foram impulsionadas por essa crescente demanda por energia renovável, destinadas à produção de biocombustíveis como etanol, biodiesel e biogás.

Essa expansão de matérias-primas e tecnologias proporcionou a classificação dos biocombustíveis em diferentes tipos ou gerações, que dizem respeito não somente ao tipo de biomassa utilizada, mas também sobre o potencial de sustentabilidade do produto. A Tabela 6 resume quais as diferentes gerações e suas principais fontes de matéria-prima, trazendo um olhar mais amplo sobre os biocombustíveis.

Tabela 6. Tipos de biocombustíveis e suas fontes de matéria-prima.

Geração/Tipo de biocombustível	Exemplos	Fontes de Matéria-prima
1ª Geração	Etanol, biodiesel e biogás	Cana-de-açúcar, milho, arroz
2ª Geração	Etanol lignocelulósico	Resíduos agrícolas (palha, bagaço)
3ª Geração	Biocombustíveis a partir de algas (etanol, biodiesel)	Micro e macroalgas
4ª Geração	Biocombustíveis de algas geneticamente modificadas	Algas metabolicamente modificadas

Fonte: Adaptado de DATTA et al, 2019

Apesar dos avanços tecnológicos proporcionarem o desenvolvimento de biocombustíveis de segunda, terceira e quarta gerações, os de primeira geração continuam recebendo destaque devido a uma maior maturidade tecnológica e infraestrutura estabelecida, principalmente o etanol de cana-de-açúcar e milho e o biodiesel a partir da soja. No entanto, a expansão da necessidade de matérias-primas agrícolas para a produção desses biocombustíveis traz consigo, além dos desafios já citados anteriormente, um aumento significativo do uso de agrotóxicos químicos, prática extremamente prejudicial ao meio ambiente e aos seres humanos (DATTA et al, 2019).

À vista disso, o controle biológico de pragas surge como uma alternativa para aumentar ainda mais a taxa de sustentabilidade atrelada aos biocombustíveis, proporcionando uma prática mais ambientalmente amigável desde a plantação das matérias-primas, reduzindo impactos ambientais ao substituir esses defensivos químicos por microrganismos benéficos, como os produtos à base de *Trichoderma*, por exemplo, contribuindo diretamente para um aumento da eficiência na produção desses biocombustíveis.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo são descritos os materiais, procedimentos experimentais e metodologias empregadas no desenvolvimento do trabalho. Inicialmente, é apresentada a metodologia utilizada para a recuperação do agente biológico ativo a partir do material sólido cultivado, bem como a caracterização do extrato obtido. Em seguida, são detalhados os processos de formulação do microrganismo em cápsulas à base de alginato e em grânulos dispersíveis em água (WDG), além dos métodos utilizados para avaliação da viabilidade ao longo do tempo e realização dos testes de antagonismo. Por fim, é apresentada a metodologia adotada para a análise da digestibilidade do amido do arroz residual, visando avaliar seu potencial de aproveitamento como fonte de açúcares para processos fermentativos.

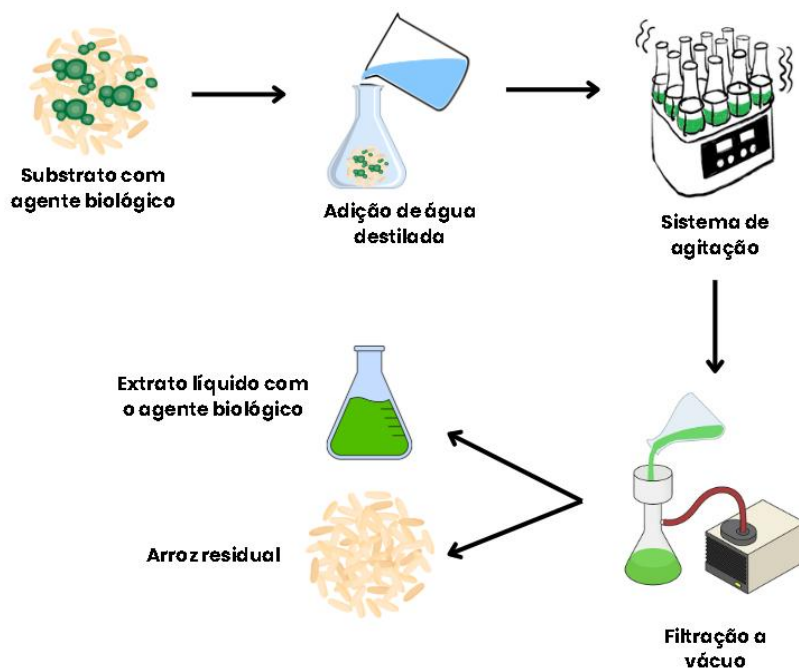
4.1 RECUPERAÇÃO DO AGENTE BIOLÓGICO ATIVO A PARTIR DO MATERIAL SECO CULTIVADO

Para a execução do procedimento, todo o material empregado foi previamente esterilizado em autoclave à 121°C por 20 minutos. Todas as etapas iniciais, desde a pesagem do substrato fermentado até a adição de água destilada foram conduzidas em cabine de fluxo laminar, assegurando condições assépticas.

A extração dos conídios foi realizada adicionando-se aos Erlenmeyers de 250 mL, 15 mL de água destilada (também esterilizada em autoclave junto aos demais materiais) por grama de sólido seco fermentado, condição estabelecida em estudos preliminares como a mais adequada para extração em escala de frascos agitados (CALDEIRA, 2025).

Após a adição da água, cada Erlenmeyer foi devidamente vedado para minimizar riscos de contaminação e, em seguida, colocado em shaker orbital, operando a 200 rpm, em temperatura ambiente. O tempo de agitação variou conforme a análise requerida. Ao término da agitação, as suspensões foram submetidas a filtração a vácuo, ainda dentro da cabine de fluxo laminar, de modo a separar o extrato líquido contendo os esporos do agente biológico ativo do resíduo sólido remanescente. A Figura 8 apresenta o esquema representativo das etapas empregadas no processo de extração e filtração do agente biológico a partir do material seco cultivado.

Figura 8. Esquema representativo da recuperação do agente biológico a partir do material seco cultivado.

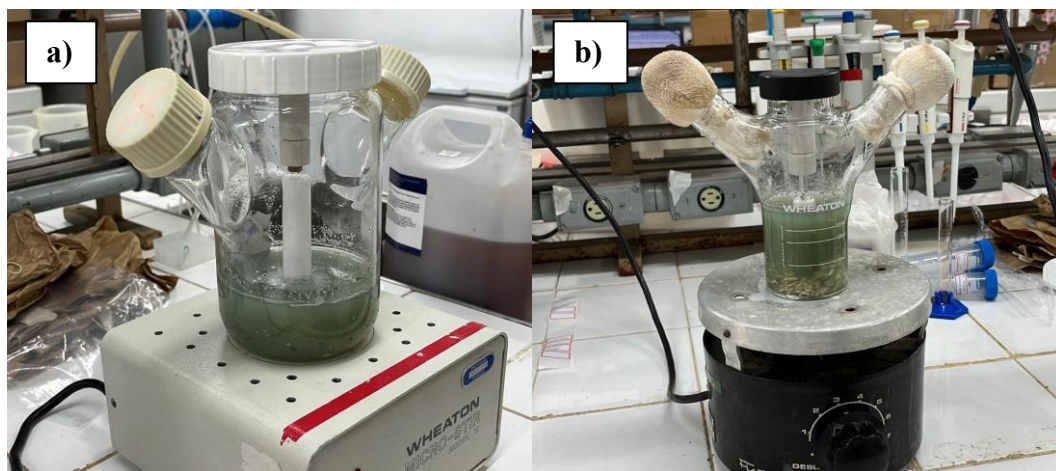


Fonte: Autoria Própria

A matéria-prima utilizada para esta etapa foi gentilmente cedida pela empresa Agrivalle Brasil Ltda., que consistiu em arroz seco em que o fungo *Trichoderma asperellum* foi cultivado (em Estado Sólido). Visando aumentar a escala da operação de lixiviação, avaliou-se a extração em frascos agitados em escala de bancada, seguindo a mesma proporção de volume de solvente (também denominado veículo) por grama de sólido seco fermentado, além de se continuar trabalhando em temperatura ambiente.

Foram utilizados dois frascos agitados, um com capacidade total de 300 mL e outro de 1000 mL. No frasco menor, foram colocados 10 gramas de sólido seco fermentado e, obedecendo à proporção de volume de veículo citada anteriormente, 150 mL de água destilada. Já no frasco maior, foram alocados 20 gramas do material sólido e 300 mL de água destilada. Com isso, ambos os biorreatores foram submetidos a agitação por cerca de 4 horas e, posteriormente, seus conteúdos foram filtrados a vácuo, separando o extrato líquido de seu resíduo sólido. A Figura 9 mostra os frascos agitados utilizados nesta etapa.

Figura 9. Frascos agitados utilizados na extração do agente biológico a) maior, de volume igual a 1000 mL; b) menor, cujo volume é de 300 mL.



Fonte: Autoria Própria

Outros testes também foram realizados, um deles repetindo o mesmo procedimento para os frascos agitados, variando apenas o tempo de agitação, adotando-se 30 minutos, além de também realizar a extração em frascos Erlenmeyer, utilizando-se 5 gramas de sólido seco e 75 mL de água destilada (seguindo a proporção de 15 mL de água destilada por grama de sólido seco) e submetendo-os à agitação em shaker durante 2h em 200 rpm e 25°C, realizando a posterior filtração destas amostras, também a vácuo. Estes testes, além de contribuir para familiarização com a metodologia, também foram úteis para avaliar um tempo adequado de extração e o melhor meio para isso (se em frascos agitados ou Erlenmeyers).

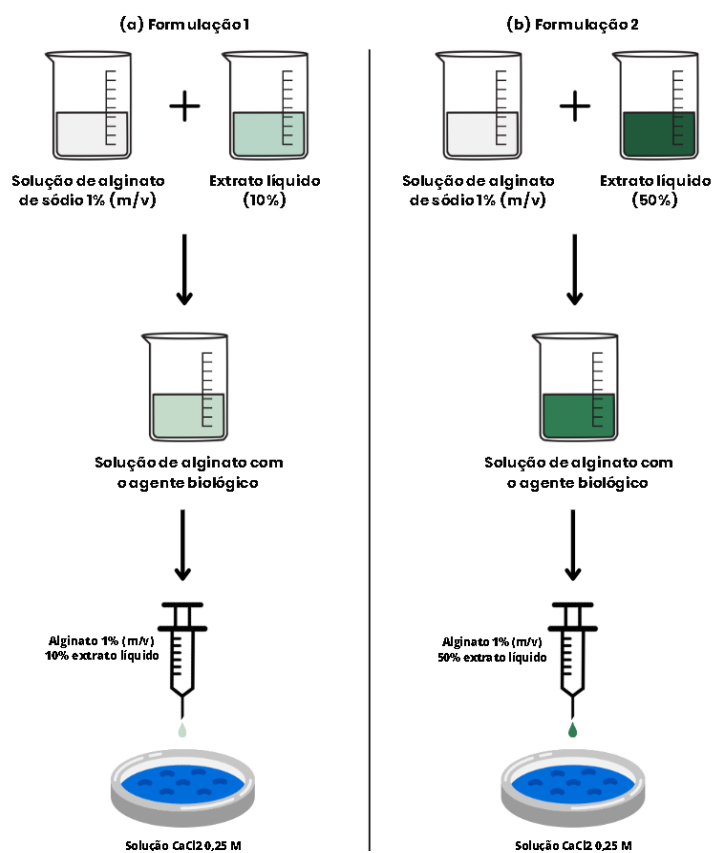
Após a realização da etapa, as concentrações dos extratos foram obtidas através da utilização de um microscópio, com a contagem de conídios em câmara de Neubauer (EMBRAPA, 2013), bem como através do plaqueamento e contagem das unidades formadoras de colônia (UFCs), cuja metodologia será descrita posteriormente na etapa de formulação do microrganismo.

4.2 FORMULAÇÃO DO MICRORGANISMO EM CÁPSULAS À BASE DE ALGINATO

A formulação do microrganismo em cápsulas à base de alginato foi realizada utilizando-se uma solução de alginato de sódio 1% (m/m) contendo a suspensão de conídios do fungo, obtida na etapa anterior de extração do agente biológico. Essa solução foi, então, gotejada em uma solução de coagulação, solução de cloreto de cálcio (CaCl₂) 0,25 M,

separando as cápsulas formadas da solução de coagulação por meio de uma peneira (SOARES et al., 2022). Para a solução de alginato de sódio contendo o extrato líquido, foram preparadas e estudadas duas diferentes amostras, uma usando 10% (Formulação 1) e outra com 50% (Formulação 2), em volume, do extrato líquido. Todos os materiais utilizados neste procedimento foram autoclavados e manuseados dentro de uma cabine de fluxo laminar, a fim de evitar contaminações. A Figura 10 ilustra o procedimento da obtenção dessa formulação.

Figura 10. Esquema representativo da obtenção das formulações à base de alginato.



Fonte: Autoria Própria

Os produtos formulados foram submetidos a uma análise de viabilidade, conduzida através da determinação da concentração de unidades formadoras de colônias (UFCs) por grama de sólido seco (UFCs/gss). Essa metodologia envolve a diluição seriada do extrato líquido sem formulação e das cápsulas de alginato (que foram dissolvidas em uma solução de citrato de sódio 8% (m/v), considerando-se a proporção de 100 mg de cápsulas para cada mL de solução, seguido de agitação em vórtex, devendo-se tomar cuidado para que a agitação não seja muito forte a ponto de aquecer a solução e/ou provocar muitos choques

entre os conídios, prejudicando o resultado) até, aproximadamente, 10^{-6} . Após isso, 100 μ L da solução diluída foram colocadas em placas Petri contendo um meio de cultivo (PDA – Potato Dextrose Agar), adicionada de Triton X-100, na proporção de 1g para cada litro de meio de cultivo. Esta etapa de plaqueamento foi realizada em triplicata para cada uma das amostras (Sem formulação, Formulação 1 e Formulação 2).

Após transferir as soluções diluídas para as placas Petri, elas foram incubadas por 72 horas a 25 °C, em incubadora do tipo B.O.D., para que possibilitasse o crescimento das colônias e sua posterior contagem. A fim de avaliar a viabilidade das formulações, avaliando como a concentração de UFCs varia com o tempo, o processo de determinação da concentração de UFCs/gss para foi repetido seis vezes para cada uma das amostras nas seguintes datas, com intervalos mínimos de 15 dias entre as análises: 25/10/2023 (início), 10/11/2023 (16 dias), 23/11/2023 (29 dias), 07/12/2023 (43 dias), 18/01/2024 (85 dias) e 05/02/2024 (103 dias).

Uma vez que a concentração de células viáveis, responsáveis pela formação de colônias, pode decair consideravelmente ao longo do tempo, torna-se interessante analisar a cinética desse decaimento, cujo modelo pode ser descrito pela equação 1.

$$C = C_0 \cdot e^{-kt} \quad (1)$$

sendo C a concentração, igual a C_0 no tempo (t) zero, e k sendo a constante de perda de viabilidade.

A partir da equação 1, pode-se chegar à equação para o cálculo do tempo de meia vida (Equação 2), ao considerar a concentração de unidades formadoras de colônias como sendo metade da concentração inicial. Dessa forma, é possível obter os tempos de meia vida, que serão fundamentais para as análises das amostras, visto que ele reflete o quão rapidamente a concentração da amostra diminui pela metade, funcionando como um índice de estabilidade da formulação.

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k} \quad (2)$$

O tempo de meia vida e a concentração inicial são parâmetros importantes para avaliar os resultados dessa etapa e serão fundamentais para trazer um melhor comparativo para os dados obtidos.

4.3 TESTES DE ANTAGONISMO

Utilizando a amostra que apresentou os melhores resultados na etapa de viabilidade, foram realizados testes de antagonismo (em que o produto formulado compete contra outras espécies de microrganismos) contra duas linhagens fitopatogênicas: *Sclerotinia sclerotiorum* e *Colletotrichum* sp. Para este procedimento, foi utilizado o método da cultura pareada, em que a cápsula de alginato contendo o microrganismo benéfico foi inoculado em uma placa Petri contendo BDA estéril, em lado oposto ao de um disco contendo cada fungo fitopatogênico (MARIANO, 1993; ASSUMPÇÃO et al., 2010; TORRES et al., 2022).

Para esta etapa, seis placas Petri contendo PDA foram preparadas para cada fungo. Três delas foram utilizadas como placas controle (contendo apenas o fungo a ser combatido). Essas placas foram colocadas em uma incubadora B.O.D. a 30 °C até que o fitopatógeno crescesse ao longo de toda a placa controle, indicando o momento em que o experimento deve ser encerrado.

Após encerrado o procedimento, foi possível realizar o cálculo da porcentagem de inibição seguindo o descrito por Quiroga et al (2001) e Edington et al. (1971), através da Equação 3, sendo D_c e D_t o diâmetro da placa Petri controle e o diâmetro de crescimento do fitopatógeno, respectivamente.

$$\%inibição = \frac{D_c - D_t}{D_c} \cdot 100 \quad (3)$$

É importante ressaltar que todas as metodologias descritas até esse ponto devem ser seguidas após autoclavar todos os materiais necessários para tal e realizadas em cabines de fluxo laminar para evitar a contaminação das amostras por outros microrganismos.

4.4 FORMULAÇÃO WDG

Para esta formulação WDG (Water Dispersible Granules), cujo objetivo foi analisar a viabilidade da amostra em grânulos dispersíveis em água, também foram utilizados materiais autoclavados, buscando evitar possíveis contaminações por outros microrganismos que pudessem atrapalhar os resultados.

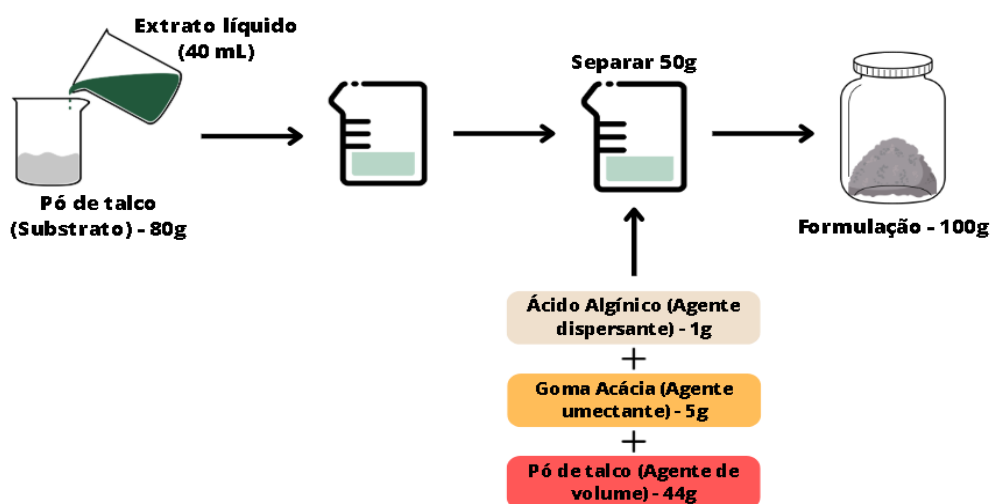
Nesta etapa, 40 mL do extrato líquido foram adsorvidos em 80 gramas de substrato (pó de talco) e, após isso, separou-se 50 gramas dessa mistura. Nela, foram adicionados 1 grama de um agente dispersante (ácido algínico), 5 gramas de um agente umidificante (goma

acácia) e 44 gramas de um agente de volume (pó de talco), com a adição de água autoclavada (15-20%, em volume), totalizando 100 gramas de formulação (JANGIR et al., 2021).

Após misturar manualmente todos os materiais, a formulação já estará pronta e poderá ser passada por um extrusor para modelar em grânulos. Para fins de simplificação, nessa pesquisa a formulação foi mantida da forma obtida, sem transformá-las em grânulos, uma vez que os resultados obtidos seriam os mesmos modelando-as ou não.

As análises de viabilidade dessa formulação também foram realizadas através da determinação das unidades formadoras de colônias (UFCs) por grama de sólido seco, sendo determinadas nos dias 11/06/2024 (Início), 24/06/2024 (13 dias), 01/07/2024 (20 dias) e 08/07/2024 (27 dias). Um esquema visual da metodologia empregada para esta formulação pode ser observado na Figura 11.

Figura 11. Esquema representativo da formulação WDG.



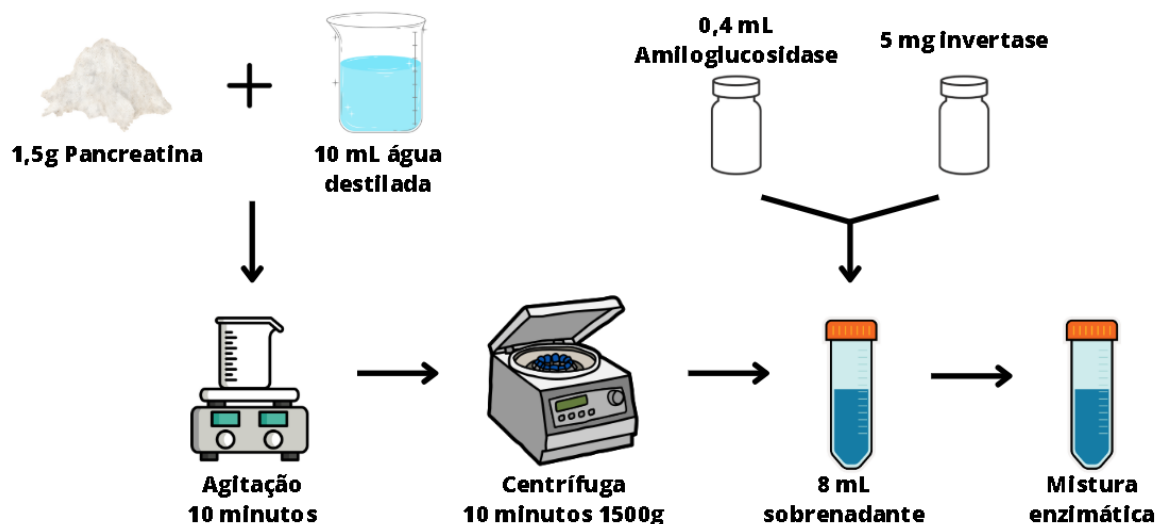
Fonte: Autoria Própria

4.5 ANÁLISE DA DIGESTIBILIDADE DO AMIDO

Como etapa adicional ao presente trabalho e com o objetivo de analisar a possibilidade de aproveitamento do resíduo sólido de arroz resultante da etapa de extração do agente biológico, resolveu-se realizar este procedimento, a fim de entender a viabilidade do uso deste material para estudos futuros. Dessa forma, utilizando-se o resíduo sólido remanescente da etapa de extração (arroz residual), realizou-se a análise da digestibilidade do amido. Para essa análise, 1,5 gramas de pancreatina foram adicionados a 10 mL de água destilada e colocado sob agitação em um agitador magnético por 10 minutos. Após o

término, a mistura foi levada para a centrífuga por 10 minutos a 1500 g. Com isso, foram retirados 8 mL do sobrenadante e misturados com 0,4 mL da enzima amiloglucosidase e 5 mg de invertase, obtendo-se uma mistura enzimática que será responsável pela quebra do amido (POLESI, 2014). Para melhor entendimento da metodologia da obtenção da mistura enzimática pode-se observar a Figura 12.

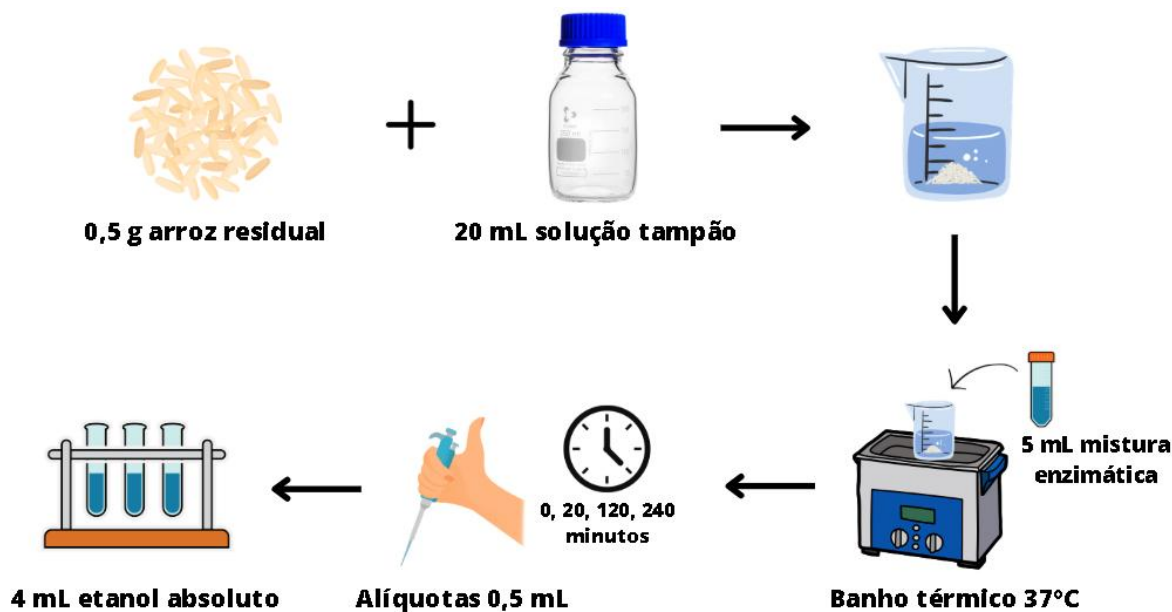
Figura 12. Esquema representativo da obtenção da mistura enzimática.



Fonte: Autoria Própria

Dando continuidade ao procedimento, buscou-se analisar a digestibilidade do amido em amostras cruas e cozidas. Para a amostra crua, 0,5 gramas do arroz residual foi pesada e triturada, adicionada de solução tampão acetato de sódio 0,1 M (pH 5,2), contendo 4 mM de CaCl₂. Essa mistura foi colocada em banho térmico por 5 minutos e, após esse período, 5 mL da mistura enzimática foram adicionados e alíquotas de 0,5 mL foram retiradas nos intervalos de 0, 20 e 120 minutos, colocando-as em tubos de 15 mL contendo 4 mL de etanol absoluto, a fim de que a reação fosse interrompida. Em seguida esses tubos seguem para a centrífuga por 5 minutos a 3000 g, de forma que o sobrenadante resultante foi utilizado para determinação da concentração de glicose utilizando-se um kit que se baseia na metodologia enzimática-colorimétrica (kit GOD-PAP/ Glicose-PP), da marca Analisa (Gold Analisa Diagnóstica Ltda.). A Figura 13 traz um esquema representativo do procedimento descrito para a análise da digestibilidade da amostra crua.

Figura 13. Esquema representativo da metodologia de digestibilidade do amido para a amostra de arroz crua.



Fonte: Autoria Própria

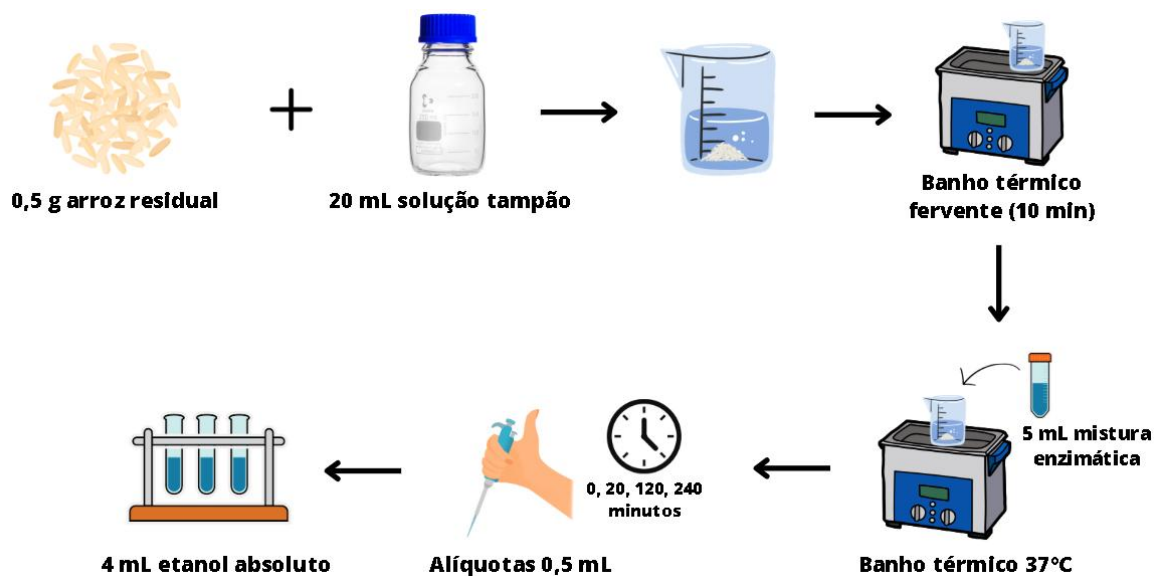
Para a amostra cozida, o procedimento é muito semelhante, a diferença reside apenas em deixar a mistura de arroz com solução tampão em banho térmico fervente por 10 minutos para a gelatinização do amido. Após isso, a amostra pode ser levada a banho térmico de 37 °C, dando continuidade ao procedimento já descrito para a amostra crua.

As análises posteriores ao procedimento dividem o amido em três principais categorias: amido rapidamente digerível (ARD), amido lentamente digerível (ALD) e amido resistente (AR), sendo que o ARD é indicado pela quantidade de glicose liberada entre 0 e 20 minutos, ALD a quantidade liberada de 20 a 120 minutos e AR o amido remanescente após esse período. Para esta etapa, todas as análises foram realizadas em triplicata (POLESI, 2014).

Para este trabalho, não foi possível realizar a medida do amido resistente e, por isso, optou-se por deixar as amostras em banho até completar 240 minutos, uma vez que após esse período é esperado que não haja mais a quebra do amido, ou seja, seria atingido o máximo potencial de quebra do amido em glicose, garantindo que toda a glicose disponível seja liberada, uma vez que a determinação da máxima concentração de glicose liberada já seria suficiente para os objetivos dessa pesquisa, visto que busca-se analisar a quantidade de glicose que estaria disponível a partir do arroz residual e que poderia ser utilizada para a

produção de etanol, por exemplo. A partir da Figura 14 pode-se observar a metodologia seguida para as amostras cozidas.

Figura 14. Esquema representativo da metodologia de digestibilidade do amido para a amostra de arroz cozida.



Fonte: Autoria Própria

Para esta etapa de análise da digestibilidade do amido, seguiu-se com a metodologia descrita anteriormente para 5 diferentes amostras: Arroz normal cru; Arroz normal cozido (10 minutos); Arroz residual cozido (5 minutos); Arroz residual cozido (10 minutos) e Arroz residual cru.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este capítulo apresenta e discute os resultados obtidos ao longo do desenvolvimento experimental do trabalho. São analisados os resultados da recuperação do agente biológico, bem como o desempenho das formulações desenvolvidas, com destaque para a viabilidade das cápsulas à base de alginato e dos grânulos dispersíveis em água. Também são discutidos os resultados dos testes de antagonismo frente a fungos fitopatogênicos, relacionando-os aos mecanismos de ação do *Trichoderma asperellum*. Por fim, são apresentados os resultados da análise da digestibilidade do amido do arroz residual e seu potencial de aproveitamento em processos fermentativos, considerando aspectos de sustentabilidade.

5.1 RECUPERAÇÃO DO AGENTE BIOLÓGICO ATIVO A PARTIR DO MATERIAL SECO CULTIVADO

A etapa de recuperação do agente biológico ativo teve como objetivo a obtenção de um extrato líquido contendo conídios do *T. asperellum*, com mínima presença de fragmentos de arroz, visando sua posterior utilização nas formulações desenvolvidas neste trabalho. Nesse contexto, diferentes estratégias de extração foram avaliadas, sendo priorizada a que apresentou maior eficiência e reprodutibilidade.

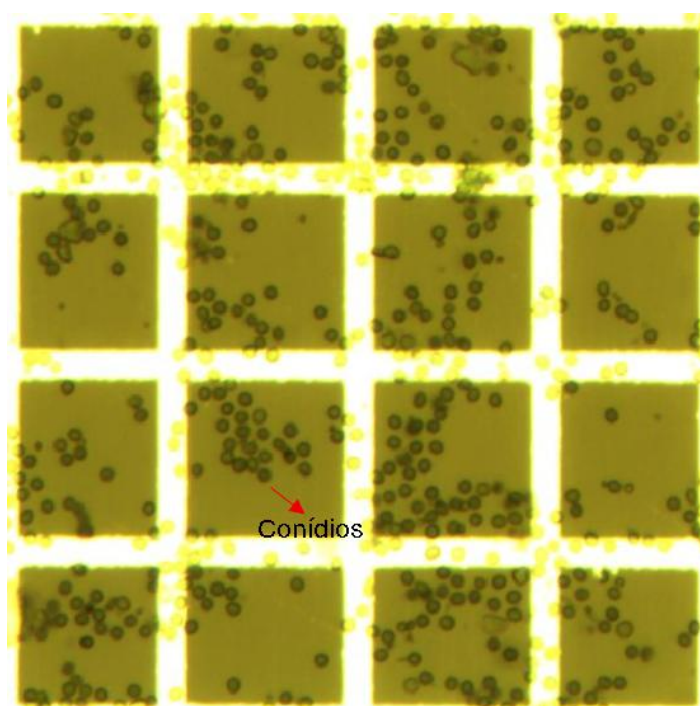
Inicialmente, destaca-se a extração em 4 frascos Erlenmeyer com um conteúdo de 3 gramas de sólido seco e 45mL de água destilada cada. Com isso, foi obtido cerca de 180 mL do novo extrato líquido contendo os conídios do agente biológico, o qual apresentou características visuais e microbiológicas adequadas para a continuidade do estudo, indicando menor quantidade de fragmentos de arroz em suspensão e ausência de contaminações aparentes. A concentração obtida para esse extrato foi de $1,37 \times 10^9$ conídios/gss (grama de sólido seco). Além da concentração em conídios/gss, também foi realizado o plaqueamento, obtendo-se a concentração em UFCs/gss. Essas concentrações mostraram resultados satisfatórios, resultando em valores na ordem de 10^9 , com bons coeficientes de variação (Tabela 7). Para a concentração em conídios/gss considerou-se a média da contagem de cinco quadrantes da câmara de Neubauer, enquanto para a concentração em UFCs/gss considerou-se a média da triplicata realizada.

Tabela 7. Concentração de conídios e UFCs na amostra, por grama de sólido seco.

Concentração	Média	Desvio Padrão	Coefficiente de variação
(conídios/gss)	$1,37 \times 10^9$	$6,47 \times 10^7$	4,72
(UFCs/gss)	$1,57 \times 10^9$	$4,32 \times 10^8$	27,60

Fonte: Aatoria Própria

Esse extrato obtido, cujos resultados estão presentes na Tabela 7, foi utilizado posteriormente na etapa de formulação do microrganismo em cápsulas de alginato.

Figura 15. Conídios visualizados em microscópio e câmara de Neubauer.

Fonte: Aatoria Própria

Realizando-se uma nova tentativa de extração, agora utilizando os tanques agitados e com tempo de agitação de 30 minutos (período no qual visualmente já se observava boa lixiviação do arroz após o contato sólido-líquido), foi possível obter os valores de concentração de conídios por grama de sólido seco, resultando em $7,69 \times 10^7$ conídios/gss para a extração realizada no tanque de maior volume e $1,29 \times 10^8$ conídios/gss para o tanque de menor capacidade. A diferença na concentração obtida entre os dois reatores pode ser resultante, em um primeiro momento, do fato de o material cultivado ser bastante heterogêneo, podendo haver variação da quantidade substrato/microrganismo na hora da pesagem. Outro ponto a ser considerado é a formação de possíveis zonas mortas ou regiões

menos agitadas no reator maior e com formação de gradientes de concentração, que pode não ocorrer no de menor volume, contribuindo para uma maior concentração no menor.

Em contrapartida, outras tentativas de extração apresentaram limitações importantes, como elevada liberação de fragmentos de arroz para o extrato líquido, dificultando a separação do microrganismo e proporcionando o desenvolvimento dos esporos com a formação de uma massa micelial, como foi o caso dos ensaios realizados nos tanques agitados (maior e menor) durante 4 horas. Esses fatores comprometeram a qualidade do extrato obtido e inviabilizaram sua utilização nas etapas posteriores do trabalho.

Além disso, outras extrações foram realizadas tanto para os tanques agitados quanto para a escala de Erlenmeyer com agitação em shaker, utilizando-se um lote antigo do produto enviado pela empresa e mantendo-se as proporções de sólido seco fermentado e água destilada. No entanto, para essas amostras foi observada a presença de contaminação por bactérias do gênero *Bacillus*, sendo necessário o devido descarte dessas amostras e resultando na impossibilidade de uso para as etapas posteriores, visto que a presença da bactéria pode afetar a viabilidade dos conídios do fungo estudado.

Apesar dessas limitações, os resultados obtidos contribuíram para o entendimento das variáveis críticas do processo de extração, como a intensidade de agitação e o tempo de agitação. Dessa forma, a análise comparativa entre os ensaios permitiu a identificação das condições mais adequadas para a recuperação do agente biológico ativo, assegurando a qualidade do material empregado no desenvolvimento das formulações avaliadas neste estudo.

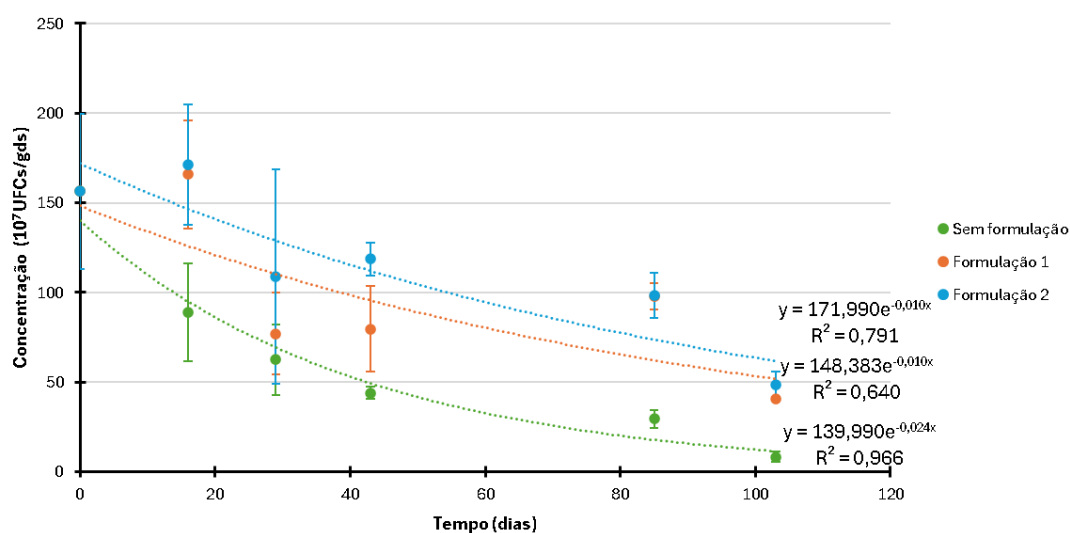
5.2 FORMULAÇÃO DO MICRORGANISMO EM CÁPSULAS À BASE DE ALGINATO E ANÁLISE DA VIABILIDADE

A partir da última extração realizada, foram obtidas as Formulações 1 e 2, conforme descrito nas metodologias. As análises das amostras com e sem formulação foram realizadas ao longo de 103 dias, permitindo avaliar a concentração em UFCs/gss ao longo do tempo, cujos resultados podem ser observados na Tabela 8 e Figura 16. Observando as concentrações obtidas ao longo de todo o período, foi possível notar que os resultados da amostra sem formulação estão de acordo com o esperado pela literatura, com a concentração decaindo exponencialmente. Além disso, é evidente que as formulações foram efetivas em manter a viabilidade das amostras, apresentando concentrações maiores que as da amostra sem formulação em todos os pontos analisados. A amostra sem formulação resultou em uma diminuição da concentração, ao final de 103 dias, de $1,57 \times 10^9$ para $8,38 \times 10^7$ UFCs/gss, cerca

de 18,7 vezes menor. Já em relação à Formulação 1, essa redução foi de $1,57 \times 10^9$ para $4,08 \times 10^8$ UFCs/gss, valor aproximadamente 3,8 vezes menor. Por fim, a Formulação 2 decaiu de $1,57 \times 10^9$ para $4,86 \times 10^8$ UFCs/gss, resultado 3,2 vezes menor. Dessa forma, foi possível notar que ambas as formulações resultaram em concentrações mais elevadas que a amostra sem formulação.

Também é importante notar que a Formulação 2 apresentou maiores concentrações em comparação à Formulação 1, mostrando-se como a mais efetiva em manter a viabilidade da amostra. Os desvios padrões (σ) e os coeficientes de variações (CV) também foram representados na Tabela 8 para facilitar a análise dos resultados. Além disso, a representação desses desvios no gráfico (Figura 16) e as curvas adicionadas permitem a análise de qual amostra é capaz de fornecer a melhor viabilidade.

Figura 16. Concentração (UFCs/gss) ao longo do tempo (dias).



Fonte: Autoria Própria

Tabela 8. Viabilidade das amostras com e sem formulação ao longo de 103 dias.

Tempo (dias)	Sem formulação			Formulação 1			Formulação 2		
	C (UFCs/gss)	σ	CV (%)	C (UFCs/gss)	σ	CV (%)	C (UFCs/gss)	σ	CV (%)
0	1,57x10 ⁹	4,32x10 ⁸	27,60	1,57x10 ⁹	4,32x10 ⁸	27,60	1,57x10 ⁹	4,32x10 ⁸	27,60
16	8,90x10 ⁸	2,73x10 ⁸	30,63	1,66x10 ⁹	3,02x10 ⁸	18,21	1,71x10 ⁹	3,36x10 ⁸	19,59
29	6,25x10 ⁸	1,96x10 ⁸	31,32	7,70x10 ⁸	2,29x10 ⁸	29,72	1,09x10 ⁹	5,96x10 ⁸	54,69
43	4,40x10 ⁸	3,46x10 ⁷	7,87	7,98x10 ⁸	2,39x10 ⁸	29,93	1,19x10 ⁹	9,19x10 ⁷	7,73
85	2,95x10 ⁸	4,82x10 ⁷	16,35	9,79x10 ⁸	7,44x10 ⁷	7,60	9,85x10 ⁸	1,25x10 ⁸	12,69
103	8,38x10 ⁷	2,90x10 ⁷	34,59	4,08x10 ⁸	1,04x10 ⁷	2,55	4,86x10 ⁸	7,52x10 ⁷	15,47

Fonte: Autoria Própria

Comparando as concentrações obtidas para as três amostras, foi observado que após 103 dias a Formulação 2 apresentou uma concentração 5,8 vezes maior que a amostra sem formulação, e 1,2 vezes maior que a Formulação 1. Mais uma vez, torna-se claro que a Formulação 2 apresentou melhores resultados na análise de viabilidade. Os altos valores de desvio padrão são consequências do que pode ser considerado um método visual e manual de contagem das UFCs, resultando em imprecisões. Além disso, por se tratar de valores de uma ordem muito elevada, contribui para o aumento desses desvios. Ademais, a formulação preveniu a formação de micélio, mantendo o fungo na sua forma de conídios, uma característica de interesse para o produto e um comportamento que não foi observado na amostra sem formulação.

Para melhores análises dos resultados, também foram adicionadas ao gráfico as curvas e suas respectivas equações, obtidas com base no modelo descrito, determinando-se a concentração inicial, a constante de perda de viabilidade para cada amostra, e o tempo de meia vida, em dias, em função da constante de perda de viabilidade (Tabela 9).

Tabela 9. Resultados obtidos para as formulações à base de alginato.

Parâmetros	Sem formulação	Formulação 1	Formulação 2
Concentração inicial [10 ⁷ UFCs/gss]	139,99	148,38	171,99
Constante de perda de viabilidade [dias ⁻¹]	0,0242	0,0102	0,00995
Tempo de meia vida [dias]	28,64	67,96	69,66

Fonte: Autoria Própria

Através das análises dos resultados da Tabela 9, foi observado que a Formulação 2 apresentou o maior valor de tempo de meia vida, indicando que essa amostra é capaz de preservar a concentração de microrganismos por mais tempo que as demais, sendo a mais vantajosa para garantir a viabilidade do produto e um maior *shelf-life*. Dessa forma, pode-se perceber que a velocidade de degradação do extrato líquido é cerca de 2,4 vezes maior que a da Formulação 2. Além disso, foi possível aferir que os tempos de meia vida da Formulação 1 foi próximo ao da segunda formulação, apesar de ainda ser inferior, indicando uma maior perda de concentração de células viáveis ao longo do tempo.

O sucesso da Formulação 2 frente à Formulação 1 pode estar associado à maior concentração de extrato para a F2 (50% vs 10% da F1), resultando em um microambiente interno mais favorável às células, em que o metabolismo residual de algumas células ajuda a manter o local mais favorável para as demais. Além disso, o fato de haver uma maior concentração de microrganismos na matriz da Formulação 2 faz com que parte do volume interno da cápsula seja ocupado por células e não por líquidos livres, reduzindo o espaço intercelular que poderia haver difusão de água e criando uma barreira mais potente contra a difusão de oxigênio e água, que poderiam resultar em oxidação celular e diminuiriam a viabilidade da amostra.

5.3 TESTES DE ANTAGONISMO

Utilizando a amostra com os melhores resultados na etapa anterior, ou seja, a Formulação 2, realizou-se o teste de antagonismo contra dois outros fungos. A Figura 17 mostra como são as cápsulas da Formulação 2 após o seu procedimento de obtenção.

Figura 17. Formulação do microrganismo em cápsulas à base de alginato (Formulação 2).



Fonte: Autorial Própria

Os testes de antagonismo mostraram que o *T. asperellum* foi eficiente em competir com os dois fungos testados. Contra *S. sclerotiorum*, demonstrou um percentual de inibição de 68,52%, dominando uma porção significativa da placa Petri e indicando uma competição por nutrientes e espaço. Já o *Colletotrichum*, o percentual foi de 100%, representando uma completa inibição do fitopatógeno, com o micoparasitismo como principal mecanismo de competição. Esses resultados demonstram que a Formulação 2 foi eficiente no controle dos dois fitopatógenos e representa um produto eficiente para ser utilizado no controle biológico de pragas. A Figura 18 ilustra os resultados obtidos para os testes de antagonismo contra os dois fungos fitopatogênicos estudados.

Figura 18. Testes de antagonismo utilizando a Formulação 2. Na esquerda, teste contra *S. sclerotiorum*. Na direita, teste contra *Colletotrichum* sp.



Fonte: Autoria Própria

Zhang (2016), ao analisar o potencial de biocontrole do *Trichoderma harzianum* contra *Sclerotinia sclerotiorum* obteve uma eficiência de inibição de 56,3%, resultado relativamente próximo ao obtido nesse estudo, com a inibição do crescimento micelial do fitopatógeno, que também corrobora com o observado no teste de antagonismo utilizando o *T. asperellum*.

Já em relação ao teste conduzido contra o *Colletotrichum* sp., Ramírez-Olier (2019), ao conduzir testes de antagonismo *in vitro* do *T. asperellum* contra esse fitopatógeno, também obteve 100% de inibição do crescimento radial (PIRG) para os dois isolados testados, atingindo o grau 4 de capacidade antagônica, em que há uma total invasão da superfície do fitopatógeno com esporulação associada. Com base em outras literaturas, também se observa a ação do gênero *Trichoderma* spp. contra o *Colletotrichum* sp. utilizando o micoparasitismo como mecanismo de controle, atuando diretamente contra o crescimento dos micélios e apresentando inibições acima de 50% (DE LA CRUZ-QUIROZ et al, 2018; VALENZUELA et al, 2015).

Em contrapartida aos resultados obtidos para o *T. asperellum*, Oliveira (2025) avaliou a ação de diferentes microrganismos (*Aspergillus flavipes* ATCC 16814®, *Phomopsis* sp., *Pseudofusicoccum* sp., *Talaromyces minnesotensis*, *Botryosphaeria* sp e *Nigrospora* sp.) contra o *Colletotrichum* sp., obtendo inibições de até 78%, mas através de mecanismos de inibição mútua de crescimento devido ao contato micelial e inibição mútua por produção de metabólitos, diferentes do encontrado no presente estudo.

Ademais, como mencionado anteriormente neste trabalho, cerca de 31% de todos os produtos microbiológicos registrados no Brasil são à base de bactérias do gênero *Bacillus*. Gabardo et al. (2020), em sua pesquisa, compara o potencial de antagonismo do *T. asperellum* com o da *B. subtilis* contra os fitopatógenos *S. sclerotiorum* e *Colletotrichum* sp., encontrando um potencial de inibição maior para o fungo do gênero *Trichoderma* contra o *Colletotrichum* sp., quando comparado ao teste com *Bacillus*. Já para o fitopatógeno *S. sclerotiorum*, houve um percentual de inibição para o teste contra a bactéria de 68,22%, valor muito próximo ao obtido no teste do presente trabalho. Essas constatações reforçam o potencial do gênero *Trichoderma* como um dos principais e eficientes microrganismos no controle biológico, se mostrando, em muitos casos, mais eficiente que o agente mais utilizado no mercado atualmente.

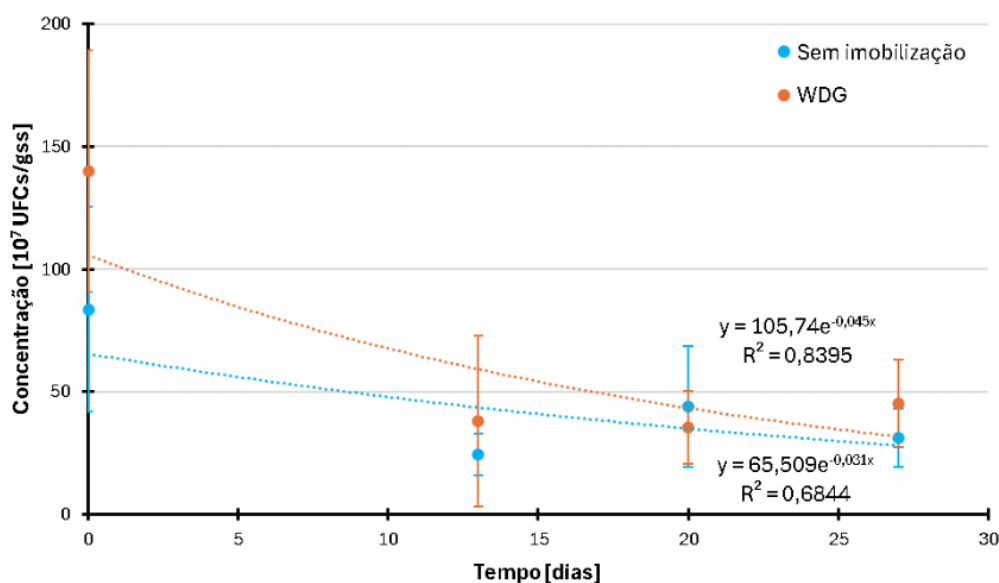
5.4 FORMULAÇÃO WDG

A partir da análise da viabilidade da formulação WDG foram obtidos os resultados apresentados na Tabela 10 e da Figura 19. Pode-se observar que houve uma diminuição da concentração da amostra sem formulação de $8,35 \times 10^8$ para $3,14 \times 10^8$ UFCs/gss, cerca de 2,7 vezes menor após 27 dias, enquanto para a amostra de WDG esse decaimento foi de $4,92 \times 10^8$ para $1,78 \times 10^8$, valor aproximadamente 2,8 vezes menor.

Tabela 10. Viabilidade das amostras com e sem formulação (WDG) ao longo de 27 dias.

Tempo (t) [dias]	Sem formulação			WDG		
	Concentração [UFCs/gss]	Desvio (σ)	CV [%]	Concentração [UFCs/gss]	Desvio (σ)	CV [%]
0	$8,35 \times 10^8$	$4,19 \times 10^8$	50,13	$1,40 \times 10^9$	$4,92 \times 10^8$	35,20
13	$2,43 \times 10^8$	$8,60 \times 10^7$	35,33	$3,80 \times 10^8$	$3,48 \times 10^8$	91,45
20	$4,40 \times 10^8$	$2,48 \times 10^8$	56,44	$3,56 \times 10^8$	$1,49 \times 10^8$	41,73
27	$3,14 \times 10^8$	$1,19 \times 10^8$	38,01	$4,53 \times 10^8$	$1,78 \times 10^8$	39,37

Fonte: Autoria Própria

Figura 19. Concentração (UFCs/gss) ao longo do tempo (WDG).

Fonte: Autoria Própria

De forma semelhante ao realizado para a formulação à base de alginato, também foi realizado o ajuste conforme a Equação 2, bem como calculado o tempo de meia vida, com base na Equação 3. Os resultados obtidos foram sumarizados na Tabela 11.

Tabela 11. Resultados obtidos para a formulação WDG.

Parâmetros	Sem formulação	Formulação WDG
Concentração inicial [10 ⁷ UFCs/gss]	65,51	105,74
Constante de perda de viabilidade [dias ⁻¹]	0,031	0,045
Tempo de meia vida [dias]	22,36	15,40

Fonte: Autoria Própria

A partir dos dados apresentados, pôde-se notar que a formulação WDG não foi muito efetiva em manter a viabilidade da amostra, em comparação ao extrato líquido sem formulação, apresentando concentrações de células formadoras de colônias muito próximas entre os dois conjuntos analisados. Em relação ao tempo de meia vida, observa-se um menor valor para a formulação WDG, que confirma o fato de ela não ser eficiente na manutenção da viabilidade da amostra e possuindo uma velocidade de degradação maior que a sem formulação.

No entanto, a formulação WDG se apresenta como uma boa solução por possuir uma maior estabilidade da amostra, sem apresentar o desenvolvimento dos esporos e a formação de micélio, característica essa que não ocorre para o extrato líquido sem formulação. Além disso, de acordo com a literatura, o WDG torna-se interessante por se mostrar como um bom inibidor do crescimento dos fitopatógenos e diminuição da doença provocada na planta, bem como possuir um papel na promoção do seu crescimento. Isso ocorre devido à presença do ácido algínico em sua formulação, que atua como um condicionador do solo e como fertilizante (JANGIR et al, 2021).

5.5 ANÁLISE DA DIGESTIBILIDADE DO AMIDO

Após a determinação das concentrações de glicose seguindo a metodologia descrita, foi possível obter os resultados consolidados na Tabela 12.

Tabela 12. Concentração de glicose e desvios para cada amostra analisada.

Amostra	Tempo [min]	Concentração [mg/dL]	Desvio
Arroz normal cru	0	270,25	21,81
	20	305,80	14,17
	120	350,55	10,65
	240	411,80	7,94
Arroz normal cozido (10 minutos)	0	313,87	17,77
	20	414,33	2,61
	120	415,55	0,65
	240	420,52	8,72
Arroz residual cozido (5 minutos)	0	302,89	16,93
	20	411,14	4,53
	120	417,43	1,62
	240	418,37	1,39
Arroz residual cozido (10 minutos)	0	361,90	28,57
	20	407,20	7,59
	120	417,15	2,26
	240	417,90	1,29
Arroz residual cru	0	300,55	36,67
	20	392,48	22,98
	120	416,40	2,67
	240	416,12	0,16

Fonte: Autoria Própria

A partir da Tabela 12, foi observado que as concentrações foram aumentando ao longo do tempo, seguindo a tendência esperada da quebra do amido em glicose ao longo da

reação. Também pôde ser notado que as concentrações ficaram em torno de 400 mg/dL para todas as amostras testadas. Além disso, foi possível determinar os valores de ARD, ALD e a concentração liberada entre 120 e 240 minutos, considerando que ARD é o amido rapidamente digerível, ALD o amido lentamente digerível e que após 240 não há mais digestibilidade do amido. Com isso, esses resultados foram representados na Tabela 13.

Tabela 13. Valores ARD, ALD e após 4 horas, em mg/dL.

Amostra	ARD (0-20)	ALD (20-120)	120-240
Arroz normal cru	33,55	44,74	61,25
Arroz normal cozido (10 minutos)	100,46	1,22	4,97
Arroz residual cozido (5 minutos)	108,25	6,28	0,94
Arroz residual cozido (10 minutos)	45,31	9,94	0,75
Arroz residual cru	91,93	23,92	0,28

Fonte: Autoria Própria

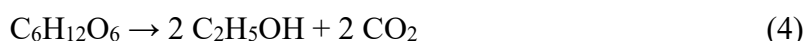
Dessa forma, pode-se observar que as amostras com cozimento do arroz antes de iniciar o processo de conversão do amido em glicose apresentam valores de ARD muito maiores que os de ALD, indicando a efetividade do cozimento do arroz como um pré-tratamento para a hidrólise do amido. Além disso, quase todas as amostras apresentaram maiores quantidades de ARD, o que é favorável para as análises, uma vez que a maior parte da glicose é possível de ser liberada com pouco tempo de processo. Também foi possível aferir que, com exceção da amostra de arroz norma cru, a glicose liberada entre 120 e 240 minutos representa valores muito pequenos, quase insignificantes, corroborando com o fato de que menores tempos de processo são suficientes para a liberação de glicose e comprovando os dados da literatura, que indicam que neste período há pouca digestibilidade do amido e que após 240 minutos a digestibilidade é nula ou praticamente nula, ou seja, já não é mais possível quebrar o amido em glicose, para essas condições de processo.

Outro procedimento de hidrólise do amido foi realizado, obtendo-se uma concentração final média, após 120 minutos, de $(368,85 \pm 18,02)$ mg/dL.

Dessa forma, a partir dos resultados obtidos foi possível notar que o resíduo da extração do microrganismo possui quantidades suficientes de açúcar para serem reaproveitadas de alguma maneira, sem que seu destino seja necessariamente o descarte, prática que, além de não agregar valor ao produto, ainda traz custos para o destino correto de acordo com a legislação vigente.

Uma alternativa para estudos futuros seria a utilização desse resíduo para a produção de etanol de amido, agregando valor ao resíduo e contribuindo para uma maior sustentabilidade tanto ao aproveitar um resíduo que antes seria apenas descartado, quanto na produção de etanol, que se trata de um biocombustível e representa uma alternativa aos combustíveis fósseis, recurso finito cuja queima é muito prejudicial ao meio ambiente.

Com o objetivo de demonstrar o potencial da produção de etanol a partir do arroz residual, foi realizada uma breve estimativa com base no cálculo estequiométrico da reação de conversão da glicose em etanol e CO₂, descrita conforme a equação 4.



Para a projeção, considerou-se a concentração de glicose obtida através da etapa de digestibilidade de amido do arroz cru após 120 minutos de contato com as enzimas, no valor de 416,40 mg/dL. Com isso, sabendo que o volume de solução era 25 mL (20 mL de solução tampão + 5 mL da mistura enzimática) e que foi utilizado 0,5 g de arroz residual durante o procedimento, determinou-se a relação entre a massa de glicose obtida para cada grama de arroz, resultando em, aproximadamente, 0,208 gGlicose/gArroz.

Além disso, utilizou-se como base a média de produção diária da empresa Toyobo do Brasil, cuja capacidade para inoculação é de 30 toneladas diárias para a produção de esporos fúngicos (OKINO-DELGADO et al, 2025). Dessa forma, foi possível encontrar uma massa de cerca de 6.246 kg de glicose, que pode ser convertida em etanol utilizando o rendimento teórico de 0,511 gEtanol/gGlicose (obtido a partir da estequiometria da reação – Equação 4). No entanto, considerando uma eficiência de 90%, valor amplamente discutido pela literatura como rendimento industrial médio, esse valor diminui um pouco e resulta em uma produção de, aproximadamente, 3.644 litros de etanol por dia, próximo a 121 L/ton arroz residual. Para fins de comparação, a partir desse volume seria possível abastecer cerca de 66 carros de passeio, sabendo que, para esse tipo de carro, o tanque de combustível possui uma capacidade média de 55 litros.

Com base na literatura, quando arroz convencional é utilizado para a produção de etanol, espera-se um rendimento de 420-450 L/ton (ALMEIDA et al, 2022). Isto indica que, ao analisar o rendimento obtido através da projeção descrita anteriormente, é observado um resultado cerca de 3,6 vezes menor que o esperado em condições normais. No entanto, é importante ressaltar que o arroz utilizado para a projeção se trata de um resíduo que seria inicialmente descartado, sem nenhum destino e demandando custos adicionais para o descarte

correto, sendo essa uma forma de aproveitar esse material e agregar valor. Além disso, o baixo rendimento se justifica por esse arroz já ter tido parte do amido consumido pelo microrganismo durante seu crescimento, cujo arroz é utilizado como fonte de carbono durante a respiração.

Ademais, o fato de ter sido feita a secagem do arroz em estufa por mais de 24 horas após a etapa de extração do microrganismo, obtendo um arroz totalmente seco e com aspecto um pouco queimado, pode ter contribuído para tornar parte do amido facilmente hidrolisável em frações mais resistentes e tornando-o menos disponível para as enzimas, resultando em uma menor liberação de glicose durante a etapa de hidrólise do amido. Por fim, uma vez que o arroz foi armazenado em geladeira após a secagem em estufa, o amido pode ter se tornado retrogradado (resultado da secagem + resfriamento), também contribuindo para a diminuição da digestibilidade (TOUTOUNJI et al, 2019).

Dessa forma, apesar de apresentar um baixo rendimento, a produção de etanol a partir do arroz residual se mostra como uma boa alternativa de destino para esse material, cujo produto pode ser avaliado para diversos destinos como: venda no mercado como biocombustível, utilização como matéria-prima em diversos setores industriais ou, até mesmo, utilização para abastecimento dos carros da empresa, caso essa seja uma opção.

6 CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Os objetivos do presente trabalho, visando a extração do agente biológico, o desenvolvimento das formulações e a análise da viabilidade dessas amostras, foram cumpridos e obtiveram-se resultados satisfatórios.

No primeiro momento de extração do agente biológico, foi possível obter boas concentrações do microrganismo, na ordem de 10^9 conídios/gss, resultado bem próximo ao esperado pela literatura, validando a metodologia utilizada e permitindo a obtenção de um extrato viável para utilizar na etapa seguinte.

Retomando o objetivo de obter formulações estáveis de conídios do fungo *T. asperellum*, ambas as formulações à base de alginato foram eficazes na manutenção da viabilidade das amostras por período superior a 3 meses, com melhor desempenho da formulação contendo maior proporção da suspensão fúngica (Formulação 2). Os testes de antagonismo foram bem-sucedidos, com as cápsulas de alginato proporcionando controle de dois fitopatógenos testados, com percentuais de inibição de 68,52% contra *S. sclerotiorum* e de 100% contra *Colletotrichum* sp., com os principais mecanismos de atuação sendo o micoparasitismo e a competição por nutrientes e espaço.

A formulação na forma de grânulos dispersíveis em água não foi eficaz na extensão do tempo de viabilidade da amostra, fornecendo concentrações próximas às da amostra sem formulação, mas trouxe outras vantagens para o produto, como o não desenvolvimento do fungo e a não formação de micélio, mantendo o microrganismo na forma de conídio, que é o desejado para o controle biológico.

Quanto ao aproveitamento do resíduo do cultivo, a análise da digestibilidade do amido resultou em concentrações próximas a 4 g/L para as amostras após 120 minutos e com a maior parte do amido sendo caracterizado como rapidamente digerível, indicando que baixos tempos de hidrólise são capazes de fornecer boas concentrações de glicose. Ademais, o cozimento do material foi eficiente para contribuir com a liberação de glicose em menor tempo.

Por fim, com a liberação de glicose através da hidrólise do amido do resíduo de arroz obtido, espera-se conseguir realizar a fermentação da amostra para a obtenção de etanol, etapa com alto potencial de desenvolvimento em pesquisas futuras. A utilização desse resíduo para produzir esse bioproduto é de grande valor, pois contribuirá para dar um destino a um material que a indústria arca com altos custos de descarte como resíduo de agrotóxico.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA IC, PACHECO TF, MACHADO F, GONÇALVES SB. Evaluation of different strains of *Saccharomyces cerevisiae* for ethanol production from high-amylopectin BRS AG rice (*Oryza sativa* L.). *Sci Rep.* 2022 Feb 8;12(1):2122. doi: 10.1038/s41598-022-06245-0. PMID: 35136175; PMCID: PMC8826355.

ASTOLFI, ANGELA LUIZA. Sacarificação e fermentação simultânea de biomassa algal e amido e uso dos resíduos do processo de fermentação para obtenção de biopeptídeos. Dissertação (Mestrado), Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, 2019.

ASSUMPÇÃO, L. C.; LACAVALVA, P. T.; DIAS, A. C. F.; AZEVEDO, J. L.; MENTEN, J. O. M. Diversidade e potencial biotecnológico da comunidade bacteriana endofítica de sementes de soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 44, n. 5, p. 503-510, 2010.

BELCHIOR, D. C. V; SARAIVA, A. S; LOPEZ, A. M. C; SCHEIDT, G. N. Impactos de agrotóxicos sobre o meio ambiente e a saúde humana. *Cadernos de Ciência e Tecnologia*, Brasília, v. 34, n. 1, 2014.

BUENO, A. F.; CARVALHO, G. A.; NOGUEIRA, M.A.; MEDEIROS, F. H. V.; MEDEIROS, F. C. L.; HUNGRIA, M.; ARDISSON-ARAÚJO, D. M.; RIBEIRO, B. M.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; HIROSE, E.; Compatibilidade no uso de bioinsumos e insumos sintéticos no manejo da cultura da soja. Em: Meyer, M. C.; Bueno, A. de F.; Mazaro, S. M.; Silva, J. C. da; *Bioinsumos na Cultura da Soja*. Brasília: Embrapa Soja, 2022. p. 473-492.

CALDEIRA, José Ricardo Bergamin; CASCIATORI, Fernanda Perpétua . ANÁLISE DAS VARIÁVEIS E CINÉTICA DE EXTRAÇÃO DE CONÍDIOS EM MEIO LÍQUIDO PARA FORMULAÇÃO DE BIOINSUMO AGRÍCOLA. In: ANAIS DO IV CONGRESSO REGIONAL DE ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS E BIOTECNOLOGIA, 2025, Congonhas. Anais eletrônicos..., Galoá, 2025. Disponível em: <<https://proceedings.science/simbio-2025/trabalhos/analise-das-variaveis-e-cinetica-de-extracao-de-conidios-em-meio-liquido-para-fo?lang=pt-br>> Acesso em: 14 Dez. 2025.

CROPLIFE BRASIL. Panorama do mercado de bioinsumos no Brasil. São Paulo: CropLife, 2025.

CZAJA, K., GÓRALCZYK, K., STRUCIŃSKI, P., HERNIK, A., KORCZ, W., MINORCZYK, M., ŁYCZEWSKA, M., & LUDWICKI, J. K. (2015). Biopesticides - Towards increased consumer safety in the European Union. *Pest Management Science*, 71(1), 3–6. <https://doi.org/10.1002/ps.3829>

DAMALAS, C. A., & KOUTROUBAS, S. D. (2018). Current status and recent developments in biopesticide use. In *Agriculture (Switzerland)* (Vol. 8, Issue 1). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/agriculture8010013>

DATTA, A., HOSSAIN, A., & ROY, S. (2019). An overview on biofuels and their advantages and disadvantages. *Asian Journal of Chemistry*, 31(8), 1851–1858. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2019.22098>

Defesa agropecuária estado de São Paulo. Lei n° 7.802, de 11/07/1989. Disponível em: <https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/lei-n-7802-de-11-07-1989,344.html>. Acesso em: Março de 2023

DE LA CRUZ-QUIROZ, R., ROUSSOS, S., RODRÍGUEZ-HERRERA, R., HERNANDEZ-CASTILLO, D., & AGUILAR, C. N. (2018). Growth inhibition of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Phytophthora capsici* by native Mexican *Trichoderma* strains. *Karbala International Journal of Modern Science*, 4(2). <https://doi.org/10.1016/j.kijoms.2018.03.002>

DE LOS SANTOS-VILLALOBOS, S., GUZMÁN-ORTIZ, D. A., GÓMEZ-LIM, M. A., DÉLANO-FRIER, J. P., DE-FOLTER, S., SÁNCHEZ-GARCÍA, P., & PEÑA-CABRIALES, J. J. (2013). Potential use of *Trichoderma asperellum* (Samuels, Liechfeldt et Nirenberg) T8a as a biological control agent against anthracnose in mango (*Mangifera indica* L.). *Biological Control*, 64(1), 37–44. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2012.10.006>

DÍAZ-RODRÍGUEZ AM, PARRA COTA FI, CIRA CHÁVEZ LA, GARCÍA ORTEGA LF, ESTRADA ALVARADO MI, SANTOYO G, DE LOS SANTOS-VILLALOBOS S. Microbial Inoculants in Sustainable Agriculture: Advancements, Challenges, and Future Directions. *Plants (Basel)*. 2025 Jan 11;14(2):191. doi: 10.3390/plants14020191. PMID: 39861545; PMCID: PMC11768969

EL-BACHÁ, Amanda; Kim, Rebecca. Estudo do processo de secagem da polpa de açaí por liofilização e atomização. TCC (Graduação); Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

EL-SAADONY, M. T., SAAD, A. M., SOLIMAN, S. M., SALEM, H. M., AHMED, A. I., MAHMOOD, M., EL-TAHAN, A. M., EBRAHIM, A. A. M., ABD EL-MAGEED, T. A., NEGM, S. H., SELIM, S., BABALGHITH, A. O., ELRYS, A. S., EL-TARABILY, K. A., & ABUQAMAR, S. F. (2022). Plant growth-promoting microorganisms as biocontrol agents of plant diseases: Mechanisms, challenges and future perspectives. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 13). <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.923880>

EMBRAPA (2013). Avaliação da qualidade de produtos à base de *Trichoderma*. Disponível em:

<https://cnpma.embrapa.br/down_site/forum/2013/trichoderma/ApostilaTrichoderma2013.pdf>. Acesso em 21 de novembro de 2025.

FAO. (2011). *FAO in the 21st Century: Ensuring food security in a changing world*. In Office.

FELIPE DE LIMA ANDREATA M, MIAN S, ANDRADE G, DE FREITAS BUENO A, VENTURA MU, MARCONDES DE ALMEIDA JE, FONSECA IVAN EA, MOSELA M, SIMIONATO AS, ROBAINA RR AND GONÇALVES LSA (2025) The current increase and future perspectives of the microbial pesticides market in agriculture: the Brazilian example. *Front. Microbiol.* 16:1574269. doi: 10.3389/fmicb.2025.1574269

FILHO, J. C.; DA REDAÇÃO-AGROANALYSIS, Equipe. Inovações tecnológicas e bioinsumos. *AgroANALYSIS*, v. 41, n. 7, p. 39-44, 2021.

GABARDO, G., PRIA, M. D., PRESTES, A. M. C., & SILVA, H. L. DA. (2020). *Trichoderma asperellum* e *Bacillus subtilis* como antagonistas no crescimento de fungos fitopatogênicos in vitro / *Trichoderma asperellum* and *Bacillus subtilis* as antagonists in the growth of phytopathogenic fungi in vitro. *Brazilian Journal of Development*, 6(8), 55870–55885. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n8-123>

JAGLAN, A. B., VASHISTH, M., SHARMA, P., VERMA, R., VIRMANI, N., BERA, B. C., VAID, R. K., SINGH, R. K., & ANAND, T. (2024). Phage Mediated Biocontrol: A Promising Green Solution for Sustainable Agriculture. In *Indian Journal of Microbiology* (Vol. 64, Issue 2, pp. 318–327). Springer. <https://doi.org/10.1007/s12088-024-01204-x>

JANGIR, M., SHARMA, S., SHARMA, S. (2021). Development of next-generation formulation against *Fusarium oxysporum* and unraveling bioactive antifungal metabolites of biocontrol agents. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02284-1>

JOHN, D. A., & BABU, G. R. (2021). Lessons From the Aftermaths of Green Revolution on Food System and Health. In *Frontiers in Sustainable Food Systems* (Vol. 5). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.644559>

LANDERO VALENZUELA, N., NIETO ANGEL, D., TÉLIZ ORTIZ, D., ALATORRE ROSAS, R., FREDY ORTÍZ GARCÍA, C., & OROZCO SANTOS, M. (2015). Biological control of anthracnose by postharvest application of *Trichoderma* spp. on maradol papaya fruit. *Biological Control*, 91. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.08.002>

LEGGETT, M., LELAND, J., KELLAR, K., EPP, B. (2011). Formulation of microbial biocontrol agents-an industrial perspective. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 33(2). <https://doi.org/10.1080/07060661.2011.563050>

LIN, F., MAO, Y., ZHAO, F., IDRIS, A. L., LIU, Q., ZOU, S., GUAN, X., & HUANG, T. (2023). Towards Sustainable Green Adjuvants for Microbial Pesticides: Recent Progress, Upcoming Challenges, and Future Perspectives. In *Microorganisms* (Vol. 11, Issue 2). <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020364>

MARIANO, R.L.R. Métodos de seleção in vitro para o controle microbiológico de patógenos de plantas. In: LUZ, W.C. da; FERNANDES, J.M.C.; PRESTES, A.M.;

MARKET AND MARKETS. Agricultural Biologicals Market Forecast 2025–2032. Market and Markets, 2025.

MENG, J., ZHANG, X., HAN, X., & FAN, B. (2022). Application and Development of Biocontrol Agents in China. In *Pathogens* (Vol. 11, Issue 10). MDPI. <https://doi.org/10.3390/pathogens11101120>

MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. da. *Trichoderma: uso na agricultura*. Embrapa, 2019.

MOIOLI, E., SALVATI, F., CHIESA, M., SIECHA, R. T., MANENTI, F., LAIO, F., & RULLI, M. C. (2018). Analysis of the current world biofuel production under a water–food–energy nexus perspective. *Advances in Water Resources*, 121, 22–31. <https://doi.org/10.1016/J.ADVWATRES.2018.07.007>

MORAES, Rodrigo Fracalossi de. *Agrotóxicos no Brasil: padrões de uso, política da regulação e prevenção da captura regulatória*. Texto para Discussão 2506. Brasília: Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (Ipea), set. 2019. Disponível em: https://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/9371/1/td_2506.pdf. Acesso em: novembro de 2025.

MUKHOPADHYAY, R., & KUMAR, D. (2020). Trichoderma: a beneficial antifungal agent and insights into its mechanism of biocontrol potential. In *Egyptian Journal of Biological Pest Control* (Vol. 30, Issue 1). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1186/s41938-020-00333-x>

OCTAVIANO, C. *Muito além da tecnologia: os impactos da Revolução Verde*. ComCiência, Campinas, <http://comciencia.scielo.br/scielo>. n. 120, 2010. Disponível em: <http://comciencia.scielo.br/scielo>. php?script=sci_arttext&pid=S1519_76542010000600006&lng=pt&nrm=iso. Acesso em: Fevereiro de 2023.

OKINO-DELGADO, C. H.; OLIVEIRA, F. R.; LACAVA, P. T.; CASCIATORI, F. P. Corporate Evolution of Agricultural Bio-inputs: Global and Brazilian Markets. *Journal of Agricultural Sciences Research* (2764-0973), v. 5, n. 6, p. 1–18, 3 jul. 2025.

OLIVEIRA, Fabíola Ribeiro. Desenvolvimento de bioprocesso de produção de flavonoides com atividade antagônica a fitopatógenos por cultivo em estado sólido de fungos filamentosos. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, p. 210, 2025.

ONU BRASIL. Os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável no Brasil. Nações Unidas Brasil. 2022. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/sdgs>. Acesso em: 20 nov. 2025.

PACHECO, Mariana Ferraz. Recentes avanços na produção e comercialização de agentes microbiológicos de controle. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara, 2021.

POLESI, Luís Fernando. Propriedades físico-químicas, nutricionais e sensoriais de grãos e amido de arroz submetidos à radiação gama. Tese (Doutorado), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

POVEDA, J. (2021). Trichoderma as biocontrol agent against pests: New uses for a mycoparasite. In *Biological Control* (Vol. 159). Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104634>

RAD2024: Relatório Anual do Desmatamento no Brasil 2024 - São Paulo, Brasil - MapBiomass, 2025 - 209 páginas DOI: DOI 10.1088/1748-9326/ac5193 - <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1748-9326/ac5193> doi: 10.1088/1748-9

RAMÍREZ-OLIER, J., TRUJILLO-SALAZAR, J., OSORIO-ECHEVERRI, V., JARAMILLO-CIRO, M., & BOTERO-BOTERO, L. (2019). In vitro antagonism of *Trichoderma asperellum* against *Colletotrichum gloeosporioides*, *Curvularia lunata*, and *Fusarium oxysporum*. *Revista UIS Ingenierías*, 18(2). <https://doi.org/10.18273/revuin.v18n2-2019015>

SOARES, R.C.; ZANGIROLAMI, T.C.; GIORDANO, R.L.C.; DEMEKE, M.M.; THEVELEIN, J.M.; MILESSI, T.S. Cell Immobilization Using Alginate-Based Beads as a Protective Technique against Stressful Conditions of Hydrolysates for 2G Ethanol Production. *Polymers* 2022, 14, 2400. <https://doi.org/10.3390/polym14122400>

TORRES, F. L.; BOGAS, A. C.; ANDRADE, P. H. M.; SOUSA, C. P.; LACAVAL, P. T. Bioprospection and biotechnological potential of endophytic fungi associated to plants of Brazilian savannah. *Revista Concilium*, v. 22, n. 1, 2022.

TOUTOUNJI, M. R., FARAHNAKY, A., SANTHAKUMAR, A. B., OLI, P., BUTARDO, V. M., & BLANCHARD, C. L. (2019). Intrinsic and extrinsic factors affecting rice starch digestibility. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 88, pp. 10–22). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.012>

Uso do etanol evita 515 milhões de toneladas de CO₂. Disponível em: <<https://unica.com.br/noticias/uso-do-etanol-evita-515-milhoes-de-toneladas-de-co2na-atmosfera/>>.

ZEM, A. C.; DA REDAÇÃO-AGROANALYSIS, Equipe. Inovações tecnológicas e bioinsumos. *AgroANALYSIS*, v. 41, n. 7, p. 39-44, 2021.

ZHANG, F., GE, H., ZHANG, F., GUO, N., WANG, Y., CHEN, L., JI, X., & LI, C. (2016). Biocontrol potential of *Trichoderma harzianum* isolate T-aloe against *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. *Plant Physiology and Biochemistry*, 100. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.12.017>