

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul

Campus Bento Gonçalves

Produção de bioinsumos para controle biológico de pragas e doenças de interesse agrícola na Beifiur Ltda, em Garibaldi - RS

Rodrigo Gobatto

Bento Gonçalves

2024

Rodrigo Gobatto

Produção de bioinsumos para controle biológico de pragas e doenças de interesse agrícola na Beifiur Ltda, em Garibaldi

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

Orientador: Prof. Me. Luís Carlos Diel Rupp

Bento Gonçalves, dezembro de 2024

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Autoclaves verticais.....	11
Figura 2 - Placas de petri com meio de cultivo sólido.....	12
Figura 3 - Erlenmeyer com inóculo (solução de micélios).....	14
Figura 4 - Garrafões com inóculo em produção.....	15
Figura 5 - Análise de pureza do inóculo.....	16
Figura 6 - Arroz em resfriamento para posterior inoculação.....	17
Figura 7 - Cabine de inoculação.....	18
Figura 8 - Salas de crescimento no interior da biofábrica.....	19
Figura 9 - Arroz sendo colocado na sala de secagem.....	20
Figura 10 - Pilhas de arroz na sala de secagem.....	20
Figura 11 - Peneira utilizada para extrair o fungo do arroz.....	21
Figura 12 - Amostra para controle de qualidade.....	22
Figura 13 - Material necessário para análises de pureza e concentração, dentro da câmara de fluxo laminar.....	23

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	5
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
2.1 BIOINSUMOS	6
2.2 CONTROLE BIOLÓGICO	7
2.3 <i>Trichoderma</i> sp. NA AGRICULTURA.....	7
3. ATIVIDADES REALIZADAS	10
3.1 ATIVIDADES DE ROTINA	10
3.1.1 Limpeza e esterilização de materiais	10
3.1.2 Meios de cultivo	11
3.1.3 Placas matrizes	13
3.1.4 Solução salina	13
3.2 PROCESSO PRODUTIVO DO FUNGO <i>Trichoderma asperelloides</i>	13
3.2.1 Preparação do inóculo	13
3.2.2 Esterilização e inoculação do arroz	16
3.2.3 Período de crescimento e secagem	18
3.2.4 Processo de peneiramento do arroz	20
3.2.5 Mistura do produto final	21
3.3 CONTROLE DE QUALIDADE.....	22
3.3.1 Análises de pureza e concentração	22
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	25
5. REFERÊNCIAS	26

1. INTRODUÇÃO

O presente trabalho é um relatório de estágio supervisionado apresentado como requisito parcial para a obtenção do título de Engenheiro Agrônomo. O estágio foi realizado na empresa Beifiur Ltda, localizada na cidade de Garibaldi – RS, no período de março à julho de 2024, totalizando 360 horas.

O estágio foi supervisionado pela engenheira agrônoma responsável pelo setor de controle de qualidade da empresa Bianca Luzardo Porto, pelo gerente de produção Samoel Benelli, também engenheiro agrônomo, e com a orientação do professor do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grane do Sul – *Campus Bento Gonçalves*, Luís Carlos Diel Rupp.

A Beifiur Ltda faz parte de um grupo chamado Beigrupo, o qual é dividido em empresas de diferentes áreas. De modo geral a empresa atua nas áreas de topografia e empreendimentos imobiliários, projetos de paisagismo e prestação de serviços, análises ambientais, compostagem de resíduos, produção de substratos e biofertilizantes e produção de fungos e bactérias para uso agrícola. O estágio foi realizado no setor de produção de fungos, no qual o foco é a produção do fungo *Trichoderma asperelloides*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 BIOINSUMOS

Os bioinsumos constituem hoje uma tecnologia que oferece soluções inovadoras no âmbito agrícola. Bioinsumo é um produto de origem biológica formulado a partir de microrganismos, compostos bioativos microbianos ou plantas, os quais são utilizados como bioinseticidas, biofungicidas, biofertilizantes, bioinoculantes e outros (DILL, 2022).

Os bioinsumos precisam ser produzidos em escala industrial para atender à demanda agrícola, o que exige a mecanização de processos que ainda são feitos manualmente. O tipo de componente utilizado na formulação dos bioinsumos determina a estrutura e os equipamentos da planta industrial, que devem ser planejados conforme o ingrediente ativo, como reatores específicos para fermentação de bactérias ou fungos e laboratórios dedicados para insetos ou extratos vegetais. A produção deve assegurar pureza e concentração adequadas, evitando contaminantes. Para isso, a indústria adota programas de controle de qualidade, uso de boas matérias-primas, equipamentos adequados e equipes especializadas, garantindo produtos com maior durabilidade e eficiência no campo (MEYER et al., 2022).

A crescente preocupação com a preservação ambiental e a produção sustentável de alimentos destaca conceitos como agricultura regenerativa e bioinsumos. A redução do uso de moléculas químicas na agricultura, devido a proibições ambientais e de saúde, aumenta a busca por alternativas de baixo impacto ambiental e seguras para a saúde humana. Nesse contexto, o solo e as plantas são integrados em um sistema produtivo mais equilibrado, priorizando a redução de agroquímicos. No entanto, a produção sustentável enfrenta desafios como o manejo de pragas, doenças e plantas daninhas, agravados pela resistência de populações de pragas e a perda de eficácia de químicos, exigindo estratégias de manejo eficientes para minimizar perdas econômicas (MEYER et al., 2022).

2.2 CONTROLE BIOLÓGICO

O controle biológico baseia-se no uso de inimigos naturais para controlar pragas agrícolas e doenças. Esses inimigos podem incluir insetos benéficos, predadores, parasitóides e microrganismos, como fungos, vírus e bactérias. Esse método é considerado racional e saudável, pois busca combater pragas sem deixar resíduos nos alimentos e sem causar danos ao meio ambiente ou à saúde humana. A pesquisa agropecuária visa reduzir o uso de pesticidas químicos no manejo integrado de pragas, contribuindo para a melhoria da qualidade dos produtos agrícolas, a redução da poluição ambiental, a preservação dos recursos naturais e a sustentabilidade dos agroecossistemas (CRUZ et al., 2011).

No contexto do controle biológico, a doença resulta da interação entre o hospedeiro, o patógeno e outros organismos não patogênicos que habitam o local de infecção, os quais podem limitar a atividade do patógeno ou aumentar a resistência do hospedeiro. Assim, o controle biológico envolve a interação entre o patógeno, o hospedeiro e os antagonistas, sob influência ambiental, compondo um sistema biológico. O controle biológico de doenças de plantas é definido como “a redução da densidade de inóculo ou das atividades causadoras da doença, por meio de um ou mais organismos” (MICHEREFF, 2001).

As pesquisas em controle biológico oferecem uma oportunidade para promover inovação e competitividade na agricultura brasileira, alinhando-se às demandas por práticas ambientais sustentáveis e pela valorização dos serviços ecossistêmicos. O uso de agentes de controle biológico tem ganhado relevância, com perspectivas promissoras para sua aplicação, tanto de forma natural quanto por meio de métodos aplicados. Um exemplo que vem chamando a atenção da comunidade científica é o fungo *Trichoderma* sp., conhecido por sua interação com as raízes das plantas e o solo, devido à sua capacidade de vida livre e seu potencial no manejo agrícola (FRAGOSO & CUSTÓDIO, 2016).

2.3 *Trichoderma* sp. NA AGRICULTURA

O fungo *Trichoderma* sp., naturalmente presente no solo, desempenha uma função ecológica essencial ao participar da decomposição e mineralização de

resíduos vegetais, contribuindo para a disponibilização de nutrientes às plantas. Além disso, é considerado um biofungicida natural, capaz de reduzir em até 100% a probabilidade de fungos patogênicos afetarem as culturas agrícolas. Seu rápido crescimento confere uma grande vantagem para seu uso como agente de biocontrole em larga escala. Entre os fungos com potencial antagonista, o gênero *Trichoderma* é um dos mais pesquisados e estudados. Esses fungos possuem significativa importância econômica para a agricultura, pois atuam no controle de doenças em diversas plantas cultivadas, além de promoverem o crescimento vegetal e induzirem resistência das plantas a doenças (ALVES & NUNES, 2016).

Além de seu papel no controle biológico, os fungos do gênero *Trichoderma* contribuem para o aumento do crescimento e da produtividade de várias plantas. Esse efeito está relacionado às mudanças que promovem na arquitetura das raízes, resultando em maior eficiência no uso da água e na absorção de nutrientes minerais. Esses fungos também potencializam a absorção ativa de minerais como cobre, fósforo, ferro e manganês, além de melhorar o aproveitamento de nutrientes essenciais, como o nitrogênio (LUCON, 2016).

O sucesso do uso do *Trichoderma* depende de sua capacidade de crescer, colonizar e sobreviver nos ambientes onde é aplicado. Fatores como tipo de solo, teor de matéria orgânica, pH, temperatura, disponibilidade de água, presença de microrganismos e oferta de oxigênio e nutrientes afetam diretamente sua eficácia como agente de biocontrole. É importante destacar que as linhagens de *Trichoderma* agem de forma preventiva, ou seja, sua aplicação deve ocorrer antes da manifestação da doença (LUCON, 2016).

Em 2018, a indústria brasileira de controle biológico registrou um crescimento histórico, com as empresas associadas à ABCBio movimentando R\$ 464,5 milhões, um aumento de 77% em relação a 2017. O mercado de biofungicidas, em especial, cresceu 148%, refletindo maior adoção da tecnologia pelos agricultores. Os biofungicidas registrados no Brasil incluem produtos à base de *Trichoderma* e *Bacillus*, que, apesar do avanço, representavam menos de 20% dos pesticidas registrados em 2019 (MEYER et al., 2019).

O uso de *Trichoderma* ganhou destaque no controle biológico de doenças de plantas, com aplicações iniciadas em 1987 e expansão significativa após 2000. Em

2015, mais de 5 milhões de hectares foram tratados com produtos à base desse fungo. Em 2019, havia 21 produtos registrados, sendo 66% à base de *Trichoderma harzianum*. Em 2024, o número de produtos à base de *Trichoderma* passou para 78 (Agrofit, 2024). Esses biofungicidas são amplamente usados em diversas culturas, como soja, milho, algodão e café, também promovendo crescimento vegetal. O crescimento do setor foi impulsionado por avanços na legislação, que facilitaram o registro de produtos de baixa toxicidade, coordenados entre MAPA, Ibama e Anvisa, garantindo maior acesso ao mercado para agentes de biocontrole (MEYER et al., 2019).

3. ATIVIDADES REALIZADAS

3.1 ATIVIDADES DE ROTINA

3.1.1 Limpeza e esterilização de materiais

O uso de materiais limpos e estéreis é fundamental quando se trabalha com microrganismos, indiferente da escala, seja a nível de laboratório ou escala industrial. Todas as vidrarias utilizadas devem ser sempre lavadas após o uso com água e detergente, em seguida são colocadas em uma estufa com fluxo de ar para a sua secagem. Assim que estiverem secas, elas devem ser armazenadas em local seco e livre de impurezas até o momento da sua utilização.

Alguns equipamentos como, por exemplo, os micropipetadores que não devem ser lavados, precisam ser higienizados com álcool 70% e papel toalha. O álcool 70% é, geralmente, mais utilizado por causa da sua maior eficiência. Ele possui concentração ótima para o efeito bactericida, porque a desnaturação das proteínas do microrganismo faz-se mais eficientemente na presença da água, pois esta facilita a entrada do álcool para dentro da bactéria e também retarda a volatilização do álcool, permitindo maior tempo de contato. Quando se utiliza o álcool (etanol) 99,6% para desinfecção, ocorre uma coagulação extremamente rápida, não havendo penetração no interior da célula e, portanto, não matando os microrganismos contaminantes. Essa atuação ineficaz ocorre devido à rápida volatilização do etanol nessa concentração (CUNHA, 2016).

Outros materiais como ponteiras de micropipetador, placas de petri, soluções nutritivas como meio de cultivo devem ser esterilizados em autoclave para garantir a sua total descontaminação. A autoclave é um equipamento comum de laboratório que utiliza calor úmido e alta pressão para eliminar qualquer foco de contaminação existente. Os materiais colocados na autoclave devem permanecer por, pelo menos, 20 minutos a 121°C ou 1 atm de pressão para garantir sua descontaminação. Alguns meios de cultivo líquidos, quando colocados em maior volume, podem permanecer por mais tempo para que todo o líquido alcance a temperatura necessária.

Figura 1 - Autoclaves verticais.



Fonte: Rodrigo Gobatto, 2024.

3.1.2 Meios de cultivo

Os meios de cultivo são substâncias ou misturas preparadas em laboratório, utilizadas para o crescimento e desenvolvimento de microrganismos, células ou plantas. Eles fornecem os nutrientes e o ambiente necessário para que esses organismos se reproduzam e se desenvolvam. Os meios de cultivo podem ser sólidos (como ágar) ou líquidos (como soluções nutritivas) e podem ser seletivos, permitindo o crescimento de certos tipos de organismos enquanto inibem outros, ou diferenciais, permitindo a distinção de organismos com base em suas características.

Os meios de cultivo sólidos são produtos comerciais prontos (em pó). O seu preparo é feito a partir da diluição em água, em uma garrafa de vidro, e posteriormente autoclavado. Esse meio vai estar líquido quando quente e deve ser vertido em placas de petri, também autoclavadas, e aguardar a sua solidificação em temperatura ambiente. Tal processo deve ser realizado sempre em uma câmara de fluxo laminar, pois não pode haver contaminação. A câmara de fluxo laminar é um equipamento que possibilita um ambiente estéril para processos mais específicos que exigem mais

cuidados com relação à contaminação, ela deve ser higienizada com álcool 70% e luz UV sempre antes e após o seu uso. As placas prontas devem ser agrupadas, identificadas com data e o tipo de meio de cultivo, e envoltas com plástico filme para armazenar até o seu uso.

Os meios de cultivo sólido mais utilizados são o nutriente ágar (AN), o batata dextrose ágar (BDA) e o batata dextrose ágar + triton (BDA + T). O meio de cultivo AN é propício para o crescimento de bactérias e é utilizado para os testes de pureza dos inóculos, dos conídios e dos lotes do produto final. O meio de cultivo BDA é propício para o crescimento de fungos e é utilizado para a produção das placas matrizes. O meio de cultivo BDA + T apenas é incrementado com o triton, que é um ingrediente que impede que as colônias se desenvolvam por toda a placa e umas por cima das outras. O triton contém o crescimento das colônias e possibilita a contagem mais precisa das unidades formadoras de colônia (UFC).

Figura 2 - Placas de petri com meio de cultivo sólido.



Fonte: Google.

Os meios de cultivo líquidos são utilizados para o crescimento da solução de micélios que é o inóculo utilizados para iniciar o processo produtivo. O meio de cultivo utilizado é uma solução nutritiva concentrada propícia para o crescimento de fungos, a qual foi desenvolvida pela própria empresa. O seu preparo é feito a partir da diluição

do meio concentrado em água na proporção desejada, em garrações de vidro de 10 litros ou em erlenmeyers de 500 mL, com adição de antiespumante para evitar que o meio espume e cause problemas durante o crescimento dos micélios. Após a mistura, este meio deve ser autoclavado e resfriado para dar sequência no processo.

3.1.3 Placas matrizes

As placas matrizes são o início de todo o processo produtivo. Após o isolamento do fungo, ele é cultivado em placas com meio BDA e armazenado em ambiente refrigerado até o momento do seu uso. Para a produção de uma placa matriz utiliza-se uma alça de platina, esterilizada com fogo, para pegar uma parte de micélio de uma placa já existente e colocar no centro de uma placa nova, em seguida, essa placa já identificada vai para uma câmara (BOD) com temperatura ideal para o crescimento do fungo até que ele se desenvolva por toda a superfície da placa, e então ele é armazenado em ambiente refrigerado.

3.1.4 Solução salina

A solução salina é utilizada como meio para a diluição das amostras no controle de qualidade. Ela é uma solução preparada com água, cloreto de sódio e uma substância chamada de Tween 80, que é um ingrediente que auxilia na separação dos conídios durante as análises, impedindo que eles fiquem agrupados e causem um erro na contagem e, conseqüentemente, na concentração do produto. A solução deve ser preparada e vertida em tubos de ensaio ou erlenmeyers, na sequência esterilizados em autoclave e então deve-se aguardar esfriar antes do seu uso.

3.2 PROCESSO PRODUTIVO DO FUNGO *Trichoderma asperelloides*

3.2.1 Preparação do inóculo

A produção do fungo é do tipo semi-sólida, ou seja, a parte inicial é realizada no meio líquido e posteriormente passa para a fase sólida, que ocorre no arroz. O inóculo é a parte líquida do processo, ele é uma solução de micélios utilizada para a

inoculação do arroz.

A preparação do inóculo inicia com a preparação do meio de cultivo líquido em erlenmeyers, os quais devem ser autoclavados e em seguida resfriados. O processo segue com a inoculação do fungo nos meios de cultivo dentro da câmara de fluxo laminar. Com o auxílio de uma alça de platina, retira-se de uma pequena porção de micélios de uma placa matriz e coloca-se nos erlenmeyers, essa é a primeira inoculação. Após inoculados, eles são colocados em uma incubadora do tipo shaker por, aproximadamente, 72 horas para o desenvolvimento dos micélios. Na retirada, todos os erlenmeyers são analisados (figura 3) para ver se há contaminação ou não, se ocorrer contaminação eles são descartados, enquanto os outros são guardados em ambiente refrigerado até o seu uso.

Figura 3 - Erlenmeyer com inóculo (solução de micélios).



Fonte: Rodrigo Gobatto, 2024.

Na sequência, é preciso dar escala para o volume de inóculo a partir da inoculação em garrafões de 10 litros. Com o meio de cultivo líquido já esterilizado e resfriado, faz-se a inoculação deles. Cada erlenmeyer que foi armazenado (figura 3) é colocado em um dos garrafões, os quais permanecem em uma sala apropriada com temperatura controlada e fluxo de ar, os garrafões também possuem fluxo de ar para

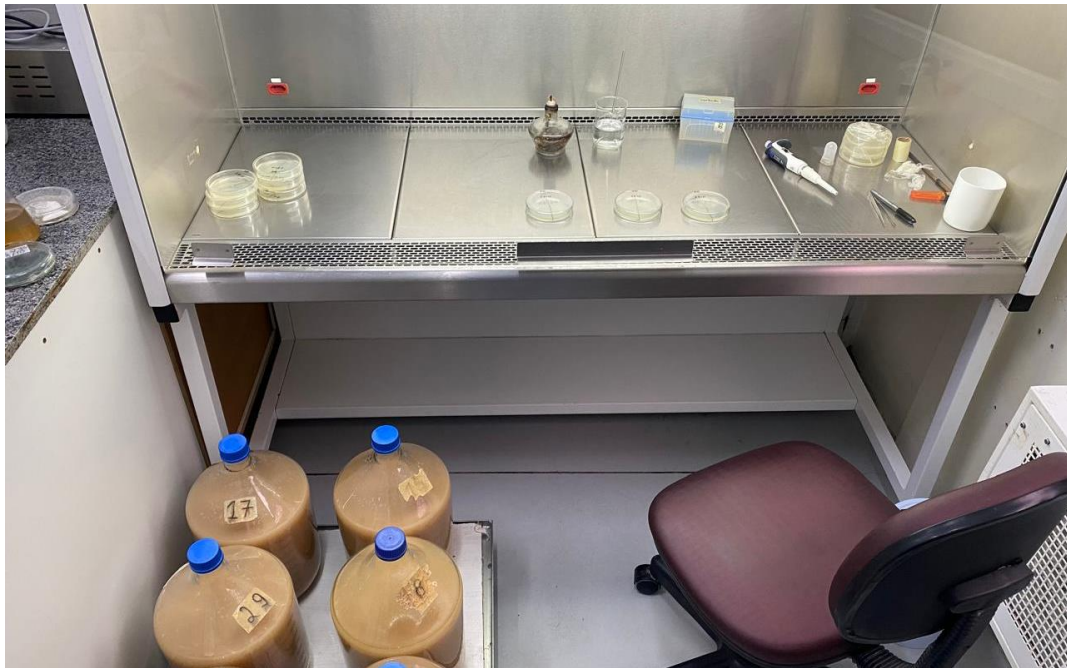
garantir uma boa oxigenação para o crescimento dos micélios. Este processo leva, aproximadamente, 48 horas. Assim que estiverem prontos, eles são analisados para ver se há contaminação e, caso houver, aqueles são descartados, enquanto o restante é armazenado em ambiente refrigerado até o seu uso. O inóculo pronto nestes garrafões (figura 4) é que será utilizado para a inoculação do arroz.

Figura 4 - Garrafões com inóculo em produção.



Fonte: Rodrigo Gobatto, 2024.

Figura 5 - Análise de pureza do inóculo.



Fonte: Rodrigo Gobatto, 2024.

3.2.2 Esterilização e inoculação do arroz

A fase sólida da produção do fungo é realizada no arroz, que apresenta boa quantidade de amido utilizado para o crescimento do fungo e, também uma boa área superficial, pois o fungo se desenvolve na superfície dos grãos.

Primeiramente o arroz precisa ser totalmente esterilizado, então coloca-se uma porção de arroz em embalagens plásticas e em seguida eles são selados. Antes de entrar na autoclave, este arroz precisa ser hidratado, com o auxílio de uma envasadora coloca-se água no arroz já nas embalagens e eles são colocados na autoclave para a sua esterilização. Assim que eles são retirados da autoclave, eles precisam ser destorroados para deixar o arroz o mais solto possível e levados para uma sala de resfriamento até o momento da inoculação.

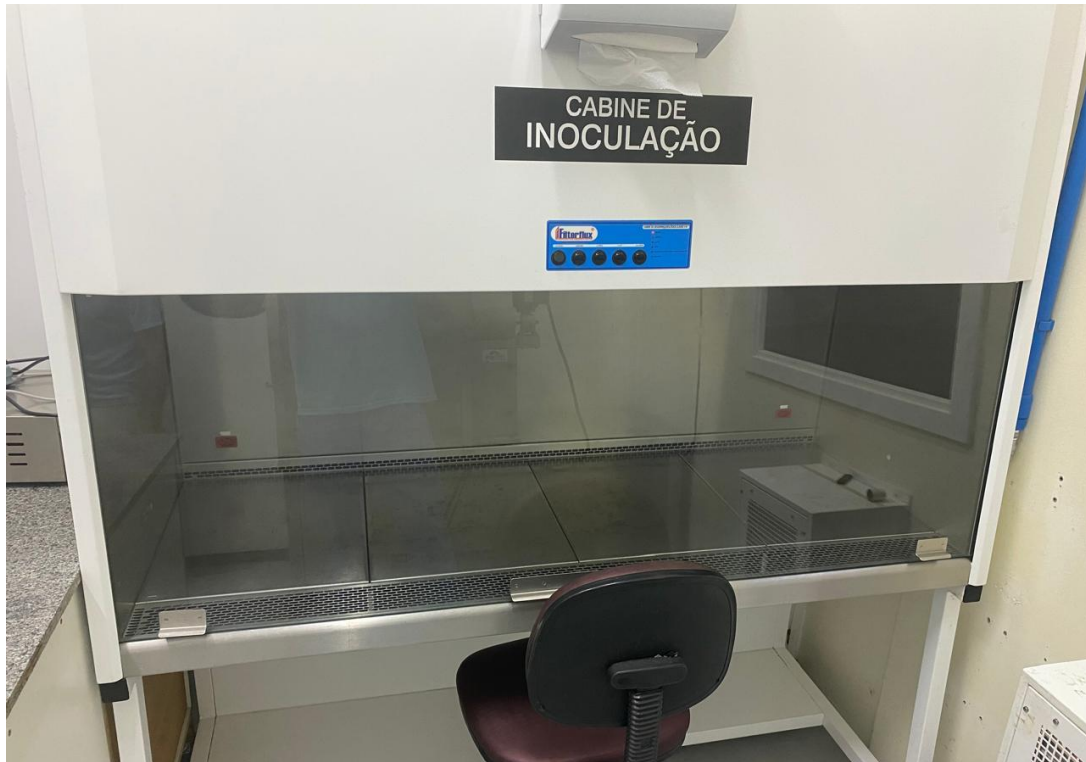
Figura 6 - Arroz em resfriamento para posterior inoculação.



Fonte: Rodrigo Gobatto, 2024.

A inoculação é realizada quando o arroz já estiver resfriado e o processo é feito dentro da câmara de fluxo laminar para garantir um ambiente estéril. Então, com o auxílio de uma envasadora, inocula-se o arroz com um volume padrão de inóculo que já havia sido preparado e armazenado. Após inoculado o arroz deve ser mexido para espalhar ao máximo o inóculo em todos os grãos. Em seguida, os saquinhos são espalhados em caixas e levados para uma sala de crescimento com temperatura e umidade controlados.

Figura 7 - Cabine de inoculação.



Fonte: Rodrigo Gobatto, 2024.

3.2.3 Período de crescimento e secagem

O arroz inoculado permanece nas salas de crescimento por, aproximadamente, 7 dias para que o fungo se desenvolva de forma adequada. O ambiente é iluminado e deve sempre ser supervisionado para garantir que não ocorra nenhuma mudança de temperatura ou umidade. Nessa fase ocorre a esporulação do fungo, o micélio se desenvolve no arroz e quando chega no seu estado de maturação ele inicia a formação dos conídios, que são utilizados na formulação do produto final, deixando o arroz com aspecto esverdeado.

Figura 8 - Salas de crescimento no interior da biofábrica.



Fonte: Rodrigo Gobatto, 2024.

Após esse período o arroz é levado para uma sala de secagem para a retirada de toda a umidade do arroz e do fungo possibilitando a sua extração, que só ocorre quando o teor de umidade estiver bem baixo. Este processo pode levar de 5 a 7 dias, dependendo das condições do arroz, que podem variar um pouco.

Figura 9 - Arroz sendo colocado na sala de secagem.



Fonte: Rodrigo Gobatto, 2024.

Figura 10 - Pilhas de arroz na sala de secagem.



Fonte: Rodrigo Gobatto, 2024.

3.2.4 Processo de peneiramento do arroz

O peneiramento é o processo de extração do fungo dos grãos de arroz. O arroz já seco é colocado em uma peneira e, com alta vibração, é possível separar os conídios do fungo dos grãos de arroz. Estes conídios são colocados em sacos plásticos, pesados, identificados e armazenados em ambiente refrigerado até que seja feita a formulação final. Sempre são retiradas amostras de cada sala para fazer análise de contaminação e concentração.

Figura 11 - Peneira utilizada para extrair o fungo do arroz.



Fonte: Rodrigo Gobatto, 2024.

3.2.5 Mistura do produto final

A formulação do produto final é o último processo realizado. Então, a mistura dos conídios armazenados é feita com outros ingredientes inertes na proporção padrão da empresa a fim de garantir a concentração do produto final. Todos os ingredientes são misturados durante 30 minutos para a sua total homogeneização e, antes do embalamento do produto, são retiradas todas as amostras necessárias para controle de qualidade.

Figura 12 - Amostra para controle de qualidade.



Fonte: Rodrigo Gobatto, 2024.

O produto pronto é armazenado em sacos plásticos à vácuo e em sacos plásticos aluminizados, também com vácuo. Os pacotes são rotulados e etiquetados com todas as informações necessárias como a data de produção, lote, validade, indicações de uso e armazenamento.

3.3 CONTROLE DE QUALIDADE

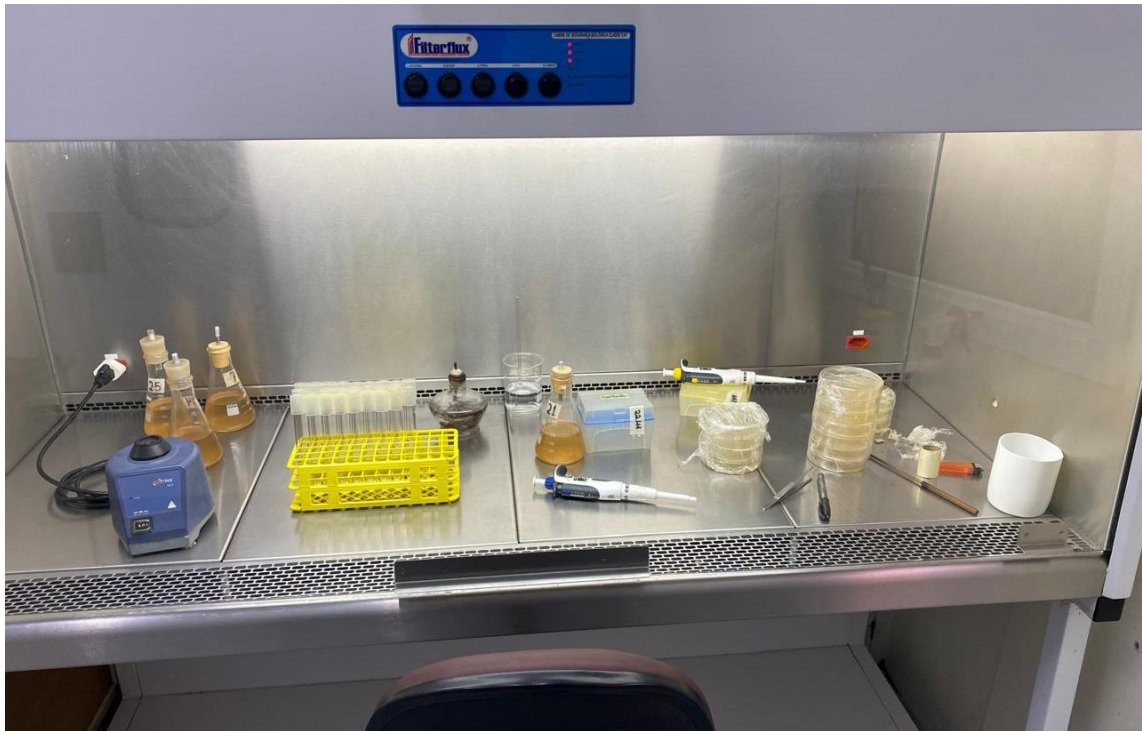
3.3.1 Análises de pureza e concentração

O controle de qualidade é uma fase muito importante do processo. As análises são essenciais para garantir a pureza do inóculo utilizado e a concentração do produto final, a maior parte delas é feita no setor de produção, principalmente as análises de pureza, enquanto as análises finais são realizadas no setor de controle de qualidade.

Essas análises são realizadas dentro da câmara de fluxo laminar e são utilizados os seguintes equipamentos, previamente autoclavados e/ou esterilizados com álcool 70%, micropipetadores de 100 e 1000 μ L e suas ponteiros, placas com meio de cultivo, béquer com álcool 96% e alça de drigalski, béquer para descarte de ponteiros, bico de Bunsen, salinas, agitador tipo vortex e caneta para identificação.

Todos os materiais devem ficar 20 minutos dentro da câmara de fluxo laminar com luz UV antes de serem usados.

Figura 13 - Materiais necessários para as análises de pureza e concentração, dentro da câmara de fluxo laminar.



Fonte: Rodrigo Gobatto, 2024.

A análise de pureza é mais simples, geralmente feita com os inóculos tanto em erlenmeyers quanto em garrafões e com a amostra dos conídios. As amostras devem ser agitadas e, com o auxílio de um micropipetador são colocados 100 μL de inóculo em uma placa de petri com meio de cultivo do tipo AN e espalhados com uma alça de drigalski, previamente flambada, sobre toda a superfície da placa até secar. Após, as placas são identificadas com a data e o número da amostra e levadas para a BOD, câmara com temperatura ideal para o crescimento dos microrganismos em placas, e em, aproximadamente, 24 horas é possível fazer a avaliação e verificar se há contaminação ou não para realizar o descarte ou armazenamento do inóculo.

A análise de concentração é realizada com as amostras dos conídios e do produto final. As amostras são diluídas previamente em salinas e agitadas por 20 minutos em uma incubadora do tipo shaker para a total dispersão dos conídios na solução. Em seguida, com o auxílio de um micropipetador dentro da câmara de fluxo laminar faz-se o processo conhecido por diluição em série, tal processo precisa ser

realizado devido à alta concentração da amostra, o que possibilita a contagem.

A diluição em série é realizada a partir da amostra inicial com o micropipetador e os tubos de ensaio, sempre trocando a ponteira e agitando no vortex entre cada tubo. A diluição é feita até que a contagem seja possível, geralmente na oitava. Após a diluição é feito o plaqueamento, no qual coloca-se um volume de 100 µL da diluição sobre uma placa de petri com meio de cultivo do tipo BDA + T e faz-se o espalhamento com a alça de drigalski até secar. Geralmente são plaqueadas as duas últimas diluições. Também é feita uma placa do tipo AN para ver se há contaminação (segunda diluição). Na sequência, as placas são identificadas com a diluição, amostra e data, e levadas para a BOD até o crescimento das UFC, em, aproximadamente, 48 horas é possível realizar a contagem e, com o auxílio de um fórmula, encontrar a concentração final por grama do produto.

A garantia do produto final é de 1×10^{10} UFC por grama do produto com validade de dois anos, então é fundamental a realização das análises para garantir a pureza e concentração. Em caso de dúvida, as análises podem ser refeitas.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A realização do estágio final nesta empresa representou uma grande experiência na área de produção de microrganismos em escala industrial, dentro da área da biotecnologia. Ao longo do período foram acompanhadas todas as atividades relacionadas à produção do fungo *Trichoderma asperelloides*, desde os processos iniciais até a formulação do produto e as análises do controle de qualidade.

A empresa é diversificada nas suas áreas de atuação e o foco dos esforços mudou com relação aos anos iniciais. Hoje, ela está se desenvolvendo muito na área da biotecnologia, principalmente na produção de fungos e bactérias de interesse agrícola, assim como projetos de compostagem em parceria com outras empresas do ramo agrícola e a produção de biofertilizantes à base do processo de compostagem.

O estágio foi uma experiência significativa na minha formação acadêmica. Tive a oportunidade de conhecer e trabalhar com profissionais da área e aprender um pouco mais sobre a área da produção de fungos de interesse agrícola, em escala industrial. Ele foi importante para a minha inserção no mercado de trabalho, pois ao final do estágio surgiu a oportunidade de continuar trabalhando na empresa e contribuindo para o seu crescimento.

5. REFERÊNCIAS

ALVES, André Luiz; NUNES, Meirieli. **USO DE *TRICHODERMA* SPP. NO CONTROLE DE ANTRACNOSE NA CULTURA DO FEIJOEIRO COMUM *PHASEOLUS VULGARIS***. Revista Técnico-Científica do CREA-PR: 4ª edição, fevereiro de 2016.

CRUZ, José Carlos; MAGALHÃES, Paulo César; FILHO, Israel Alexandre Pereira; MOREIRA, José Aloísio Alves. **Milho: O produtor pergunta, a Embrapa responde**. Embrapa Informação Tecnológica. Brasília: 2011.

DILL, Ricardo Eugenio. **BIOINSUMOS NA AGRICULTURA BRASILEIRA: Alternativa biológica para uma agricultura ambientalmente sustentável**. Orientador: Alexandro Cagliari. 2022, 100f. Dissertação (Mestrado profissional em ambiente e sustentabilidade) – Universidade Estadual do Rio Grande do Sul – Unidade Hortências, 2022.

FRAGOSO, Daniel de Brito; CUSTÓDIO, Daniel Pettersen. **Uso de agentes de controle biológico e promotores de crescimento de plantas em arroz de terras altas**. Informativo Técnico: Núcleo de Sistemas Agrícolas da Embrapa Pesca e Aquicultura, setembro de 2016.

MEYER, Maurício Conrado et al.. **Bioinsumos na cultura da soja**. Embrapa: Brasília – DF, 2022.

MEYER, Maurício Conrado et al. ***Trichoderma*: uso na agricultura**. Embrapa: Brasília – DF, 2019.

MICHEREFF, Sami J. **FUNDAMENTOS de Fitopatologia**. Recife: fevereiro de 2001.

LUCON, Cleusa Maria Mantovanello. **Tecnologia Sustentável: *Trichoderma***. São Paulo, 2016. Disponível em:
http://www.biologico.agricultura.sp.gov.br/pdf/tecnologia_sustentavel/trichoderma.pdf