

9

Produção de bactérias entomopatogênicas na América Latina

DEISE M. F. CAPALBO¹
IRACEMA O. MORAES^{8,9}
OLÍVIA M. N. ARANTES³
LEDA N. REGIS⁴
ORIIETA FERNANDEZ-LARREA VEGA⁵
GRACIELLA B. BENINTENDE⁶
SANDRA E. GUIMARÃES⁷
REGINA O. M. ARRUDA^{2,8}
RODRIGO O. MORAES⁸

Introdução

O uso excessivo ou indiscriminado de agrotóxicos e seus impactos negativos estão se tornando cada vez mais causa de preocupação mundial, mostrando a necessidade de desenvolvimento de métodos ambientalmente mais seguros para

1. Embrapa Meio Ambiente — Rod. SP 340, km 127,5, CP 69, 13820-000, Jaguariúna, SP, Brasil. deise@cnpma.embrapa.br

2. Universidade Guarulhos — Praça Tereza Cristina, 1, Centro, Guarulhos, SP, Brasil. regina-arruda@hotmail.com

3. Universidade Estadual de Londrina (UEL) — Rod. Celso Garcia Cid Pr 445, km 380, 86051-990, Londrina, PR, Brasil. oarantes@uel.br

4. Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (Fiocruz) — Av. Prof. Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária, 50670-420, Recife, PE, Brasil. leda@cpqam.fiocruz.br

5. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (Inisav) — Calle 110, 514e/5taB y 5taF, 11600, Havana, Cuba. oflarrea@inisav.cu

6. Imyza, Inta — Las Cabañas y De los Reseros s/n, 251712, Castelar, Buenos Aires, Argentina. gbenintende@cnia.inta.gov.ar

7. Universidade Federal de Lavras (Ufla) — Campus Universitário, 37200-000, Lavras, MG, Brasil. sandra_ufla@yahoo.com.br

8. Probiom Tecnologia — R. Lauro Vanucci, 1020, 13087-548, Campinas, SP, Brasil. www.probiom.com.br

9. Fundação André Tosello — R. Latino Coelho, 1301, 13087-010, Campinas, SP, Brasil. diretoria@fat.org.br

o controle de pragas. Mesmo os países em desenvolvimento estão conscientes e preocupados com esses impactos e se mostram interessados no desenvolvimento e implantação de programas de manejo integrado de pragas (MIP).

O uso de microrganismos como bioprodutos seletivos tem mostrado alguns sucessos notáveis. Nos dias atuais, várias bactérias, fungos e vírus estão sendo utilizados em produtos comerciais, como resultado dos esforços para se atingir bons processos de produção e formulação. Apesar da qualidade e sucesso de alguns produtos, o mercado de biopesticidas representa, ainda, uma fração de apenas 1,3% do mercado global de inseticidas (Tamez-Guerra et al., 2001).

As bactérias são, atualmente, os agentes de controle biológico mais promissores. Mais de cem espécies de bactérias já foram descritas infectando insetos. Algumas são, inclusive, produzidas comercialmente, entre elas, *Bacillus thuringiensis* (Bt), *Bacillus sphaericus* (Bs) e *Bacillus moritai* (Moraes et al., 2001b; Ignoffo & Anderson, 1979; Aizawa, 1990; Khetan, 2001; Regis et al., 2001). Outras, como *Bacillus popilliae*, o agente causador da enfermidade leitosa em larvas de escarabeídeos, têm sido comercializadas, mas sua disponibilidade no mercado é limitada, devido aos problemas na sua produção massal.

A bactéria *B. thuringiensis* é conhecida desde 1900, sendo esta espécie a mais utilizada mundialmente como biopesticida. As diversas variedades dessa bactéria são altamente eficientes contra algumas pragas agrícolas e vetores de doenças, sendo mais utilizadas em países desenvolvidos, onde são feitos maiores investimentos no desenvolvimento de produtos. Tamez-Guerra et al. (2001) informam que, dos cerca de US\$ 140 milhões anuais comercializados em produtos à base de Bt, 50% são referentes à comercialização nos Estados Unidos e Canadá.

Para a América Latina, o alto custo de produtos comerciais à base de Bt deve-se ao fato de a produção desse microrganismo ser realizada nos países desenvolvidos, o que implica em despesas relativas a importação, transporte e distribuição. Certamente, se fosse realizada produção local ou regional, poderia haver significativa redução de custos, tornando os produtos mais competitivos para uso no controle de pragas agrícolas e vetores de doenças, além de promover o desenvolvimento de indústrias de fermentação locais, com um melhor aproveitamento de subprodutos agroindustriais regionais, passíveis de utilização como substrato, dos quais os países latino-americanos dispõem em grande quantidade.

Este capítulo resume os esforços realizados em alguns países latino-americanos para desenvolver a produção massal de bactérias e seus derivados por fermentação líquida ou em estado sólido.

O objetivo não é detalhar profundamente todos eles, mas apresentar alguns, de forma a visualizar, comparativamente, as dificuldades de cada grupo ou país, possibilitando discutir perspectivas futuras.

Processos fermentativos de produção

Todos os processos produtivos de microrganismos têm como etapa preliminar a seleção de cepas mais interessantes e adequadas ao produto final desejado, envolvendo técnicas de coleta, isolamento e manutenção descritas em manuais técnicos de processos microbiológicos. Várias revisões tratam desses aspectos aplicados às bactérias entomopatogênicas, inclusive das etapas subsequentes de replicação e multiplicação em pequena escala, sendo sugerida, para maiores detalhes, a leitura de Alves (1998), em especial os capítulos de Moraes et al. (1998, 2001b).

Há pouca literatura publicada sobre os processos de produção em larga escala de bactérias entomopatogênicas, pois muitos dos aspectos são segredos industriais que geram patentes das indústrias que os utilizam. Entre as publicações que revisam esse assunto, pode ser sugerida a leitura de Bernhard & Utz (1993) e de Couch (2000).

Para a produção de bactérias como agentes de controle biológico, pode ser utilizado o processo de fermentação em estado sólido ou semi-sólido (FES/FSS) ou a fermentação líquida, fermentação submersa (FL/FSm). Na FL/FSm, o meio nutritivo utilizado para suspender e propagar a biomassa bacteriana é líquido, enquanto na FES/FSS o substrato é composto de partículas sólidas que agem como fonte de carbono, nitrogênio e sais e/ou servem de suporte para o crescimento microbiano. Em alguns casos, o substrato está adsorvido numa matriz sólida inerte (Del Bianchi et al., 2001; Arruda, 1999). Experiências com diversos substratos sólidos para produção de Bt, em escala laboratorial, são apresentadas por Moraes & Capalbo (1985) e por Aranda et al. (2000).

A escolha dos componentes do meio de cultivo é de extrema importância e exige uma pesquisa cuidadosa para assegurar máxima produtividade e atividade por unidade de volume fermentado. Para a FES/FSS, os substratos utilizados são frequentemente os farelos, como o farelo de trigo umedecido, grãos como o arroz, o milho e o trigo, com ou sem casca. Para FL, os meios líquidos são constituídos de farinhas, extratos de proteínas, açúcares e sais, misturados em água, em proporções que assegurem um balanço adequado de carbono e nitrogênio. Revisões como as de Couch (2000), Del Bianchi et al. (2001), Moraes et al. (1994, 1998, 2001a), Moraes (2001), podem ser consultadas para maiores detalhes sobre parâmetros de produção e composição de meio de cultivo, detalhes estes que fogem ao escopo deste capítulo.

Os reatores industriais, em FL, são semelhantes aos utilizados na obtenção de produtos farmacêuticos, mas deve-se lembrar que são equipamentos caros e sofisticados, com volumes que ultrapassam os 30.000 L (Couch, 2000) (**Prancha VIIa-b**). No caso da FES, são indicadas, frequentemente, bandejas ou sacolas plásticas como reatores (Del Bianchi et al., 2001; Moraes et al., 2001a; Arruda, 1999; Arruda & Moraes, 2003) (**Prancha VIII d-e**).

O controle e monitoramento cuidadosos são processos necessários para a obtenção de resultados reprodutíveis. Alguns parâmetros físicos devem ser monitorados durante todo o processo, como: pH, temperatura, aeração, agitação e taxa de crescimento ou esporulação. Alterações na composição dos meios podem levar ao aumento da biomassa e toxinas, as quais conduzirão a um produto eficiente por um menor preço. Alguns parâmetros característicos e sua influência na obtenção da biomassa final são apresentados por Moraes et al. (1998) para FL. Na Tabela 1 são apresentados os parâmetros para o caso da FES.

Tabela 1. Fatores que afetam a bioconversão de substratos em fermentação em estado sólido (FES).

	Fatores	Fermentação (estado sólido)
Grupo 1	Fatores que afetam a ACESSIBILIDADE	<ul style="list-style-type: none"> • Tamanho e forma da partícula • Natureza cristalina ou amorfa • Porosidade • Propriedades de adsorção-dessorção de água
Grupo 2	Fatores que afetam a DISPONIBILIDADE	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatura • pH • Umidade
Grupo 3	Fatores vinculados à MATRIZ SÓLIDA	<ul style="list-style-type: none"> • Altura de leito • Volume dos espaços interpartículas

Adaptado de Arcas (2002).

Pequena produção local

A produção industrial de Bt é realizada por grandes companhias multinacionais, que dominam mais de 70% do mercado mundial. Segundo Aranda et al. (2000), nos países menos desenvolvidos, a falta de conhecimento sobre o manejo de pragas usando controle biológico com microrganismos, além do custo elevado dos bioprodutos (por serem importados), é o fator determinante para que haja limitação de aplicação do controle microbiano de pragas.

Dessa forma, estima-se que a pequena produção local, próxima aos pontos onde serão utilizados os produtos, poderá reduzir as despesas de transporte, minimizando, conseqüentemente, os custos do produto. Outra característica importante é a exploração da diversidade local de cepas bacterianas com características entomopatogênicas, que favoreçam um controle mais específico das pragas regionais. Além disso, há um aspecto socioeconômico de destaque, que é a geração de empregos e o desenvolvimento tecnológico, devido à instalação de plantas industriais de fermentação. A pequena produção local também se mostra adequada, por controlar pragas em colheitas com produção de alto custo e área cultivada pequena, para pragas regionais específicas e/ou para as etapas iniciais de um programa de MIP.

Nas pequenas plantas de produção, alguns cuidados devem ser tomados pelos técnicos de supervisão: controle de qualidade (especialmente padronização e

prevenção de contaminação microbiana) (**Prancha VIII f**), formulação (eficiência e eficácia), descarte no ambiente (possível atividade contra organismos não-alvo, persistência, disseminação) e regulamentação (diretrizes para registro). Além disso, a elaboração de um manual de utilização do bioproduto é recomendável para as boas práticas de aplicação, pois, como o modo de ação do produto biológico é diferente do modo de atuação do inseticida químico, isso levou a algum descrédito por parte dos produtores rurais (Moraes et al., 1998, 2001b).

Produção de bactérias na América Latina

Produção de Bt no Brasil

A primeira utilização de produtos à base de Bt, no Brasil, aconteceu por volta de 1960, mas os estudos sobre fermentação para sua produção só começaram em 1970, com uma dissertação de mestrado (Moraes, 1973). Desde então, muitas pesquisas foram desenvolvidas para FL (processo em batelada e processo contínuo) e para FES. Os parâmetros de engenharia, como agitação e aeração, processo de separação do caldo final, índices termobacteriológicos, processo de secagem convencional ou em secador tipo *spray-dryer*, foram determinados para *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, *israelensis* e *thuringiensis* (Arruda, 1993, 1999; Arruda et al., 1998; Capalbo & Moraes, 1997, 1988; Capalbo, 1989; Del Bianchi et al., 2001; Moraes, 1973, 1976a, 1976b, 1993; Moraes et al., 2001b; Pelizer, 1997). O emprego do processo de fiação para recuperação de esporos de Bs em meio fermentado foi avaliado, com bons resultados (Luna, 1999; Luna et al., 2003a; Rios, 1997).

Vários resíduos sólidos e águas residuárias, principalmente oriundos de agroindústrias, têm sido estudados como substrato. Ao longo dos anos, foram produzidas e testadas endo e exotoxinas de Bt (Moraes et al., 1990). Para a etapa de esterilização do substrato utilizado em algumas FES foi sugerida a aplicação de microondas para biorreatores do tipo sacola plástica (polietileno) (Moraes et al., 1999; Arruda et al., 1998; Arruda, 1999). Patentes de processos foram depositadas no Instituto Nacional de Propriedade Industrial (Inpi), em 1976 e 1986 (Moraes, 1976b, 1985), tendo a segunda recebido o prêmio de melhor invento de 1986 (Prêmio Governador do Estado de São Paulo). Com base nesses resultados, implantou-se em 2005 a Probiom Tecnologia — Indústria e Comércio de Bioprodutos, junto à Incubadora de Empresas Ciatec, da Prefeitura Municipal de Campinas, SP.

No final da década de 1990, estudos realizados por grupos de pesquisa brasileiros conduziram ao desenvolvimento industrial e semi-industrial de formulações com Bt variedade *israelensis* (Bti) e também Bs, para controle de vetores de doenças (Melo Santos, 2001). Um grupo de pesquisa de Far-Manguinhos/Fiocruz/RJ registrou patentes para o processo de produção e para a formulação desses produtos. O Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernam-

buco produz Bti e Bs por FL. Uma parceria envolvendo aquele departamento, a Empresa Pernambucana de Pesquisas Agropecuárias (IPA) e o Departamento de Entomologia do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM/Fiocruz) levou à construção local de uma planta piloto contando com um fermentador de 1.000 L instalado no IPA, onde foram produzidas, de 1997 a 2001, 44 bateladas de *B. sphaericus* 2362. O material produzido, com elevada atividade larvicida, foi utilizado experimentalmente no controle de *Culex quinquefasciatus* pelas prefeituras de vinte municípios pernambucanos. Dificuldades na implantação da infra-estrutura necessária aos processos de separação e formulação em maior escala resultaram na descontinuidade da produção. Segundo Luna et al. (2003b), a Dra. Eugênia Rios está produzindo, em escala piloto, formulações de Bti e Bs desenvolvidas na empresa Bioticom, incubada na Universidade Federal de Pernambuco. Visando à obtenção de dados necessários ao registro do produto, um tablete à base de Bti está sendo avaliado por entomologistas do CPqAM/Fiocruz, nos municípios de Moreno e Recife, PE, contra *Aedes aegypti*.

Outros produtos já desenvolvidos no Brasil contaram com a participação da iniciativa privada, como no caso da indústria Geratec, que produziu, registrou e comercializou produtos à base de Bti e Bs, para combate ao *C. quinquefasciatus*, como parte de uma cooperação técnica, iniciada em 1988, com um grupo de pesquisa da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, pertencente à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) (Embrapa, 2002). A indústria, estabelecida no Sul do Brasil, foi, entretanto, vendida no final dos anos 90, o que afetou a continuidade dessa produção.

Além dessa parceria, o mesmo grupo da Embrapa desenvolveu, no final dos anos 90, com a empresa privada Bthek Biotecnologia Ltda., sediada em Brasília, um produto eficaz para larvas de *A. aegypti* (mosquito transmissor da dengue). O produto é formulado com uma cepa de Bti, isolada pela Embrapa, com desenvolvimento de processo produtivo e formulação pela empresa privada (Embrapa, 2002). Esse produto é a primeira formulação nacional registrada. Segundo informação dos pesquisadores envolvidos, seu preço é inferior ao de formulações importadas. De acordo com a empresa Bthek, o produto, cuja produção estimada é de 1.000 L por ano, deverá chegar ao mercado na forma de pastilha e suspensão concentrada, preservando a capacidade de matar larvas por tempo prolongado. O Bt-horus SC foi lançado em abril de 2005, bem como o Sphaerus SC.

Outra cooperação com a iniciativa privada foi realizada pelo Instituto Oswaldo Cruz — Fiocruz e a empresa denominada Inpal Indústrias Químicas S.A., que controla e pretende aumentar a produção de Bti e Bs.

Uma produção em pequena escala de Bti foi desenvolvida na Universidade Estadual de Londrina (UEL), nos anos 90, baseada em experiência prévia de um grupo do Estado do Espírito Santo. O produto foi gerado, inicialmente, por FES, tendo sido substituído, mais tarde, pelo processo de FL em jarros de 15 L, em meio líquido com aeração forçada. Neste processo, após 72 horas, o caldo

fermentado é diluído convenientemente e aplicado contra mosquitos em lagoas com criadouros de larvas de pernilongo *Culex* sp. A concentração correta e a calibração do pulverizador costal, utilizado para aplicação nas lagoas, são estabelecidas pelo entomologista da equipe. O programa é totalmente desenvolvido pela universidade, com empenho das secretarias de Saúde do Município e do Estado do Paraná. Esforços para a formulação do produto estão em desenvolvimento (O. M. N. Arantes, UEL, comunicação pessoal, 2007).

Para todos os casos apresentados, há um controle de qualidade que inclui a certificação da pureza do inóculo e do produto final, da concentração de unidades infectivas e da eficácia biológica, mas nenhum detalhe do processo de produção e formulação foi mencionado em publicações. A publicação disponível sobre o assunto refere-se à patente de formulação de Medugno & Lessa (2000).

Produção de Bt em Cuba

Produtos comerciais à base de Bt, provenientes dos Estados Unidos, da França e da antiga União Soviética, foram usados em Cuba por volta de 1960 contra pragas de fumo (Fernandez-Larrea, 1999). Da mesma forma que mencionado para o Brasil, o alto preço dos produtos levou os pesquisadores cubanos a estudar e desenvolver métodos simples, efetivos e em pequena escala de produção para Bt.

Em 1980, os primeiros bioprodutos foram usados em grande escala em Cuba, devido à drástica redução da disponibilidade de agrotóxicos. Hoje são produzidos biopesticidas à base de Bt usando métodos de pequena e grande escala, utilizando FL estática, resíduos de descarte da indústria de cana-de-açúcar ou outras agroindústrias (**Prancha VIIIc**). A produção é realizada em unidades de produção projetadas e completamente construídas em Cuba, inclusive o equipamento de fermentação. A planta de fermentação gera um produto concentrado de Bt que pode ser armazenado durante seis meses, sob a temperatura de 25 a 28°C (Fernandez-Larrea et al., 1997; Rosset & Moore, 1998).

A produção cubana de Bt é realizada por uma rede de 185 Centros de Reproducción de Entomófagos y Entomopatogenos (Cree) que estão distribuídos por todo o país (Pérez & Vasquez, 2001). O processo utiliza como reatores frascos de vidro com uma proporção útil de 1/5 (volume de meio/volume do frasco). Os reatores são esterilizados e então inoculados com cepas puras; são mantidos em repouso, em ambientes climatizados entre 28 e 30°C, por um período de 10 a 15 dias. Após esse período de fermentação, um composto é acrescentado para auxiliar na preservação das condições da cultura microbiana, e o produto é então armazenado por até três meses a temperaturas de até 25°C. Nesse processo, obtém-se uma concentração entre 1 e 5×10^8 esporos/mL. O custo desse produto é de aproximadamente US\$ 0,02/L, sendo possível atingir eficiência de produção em torno de 70% (Fernández-Larrea, 2002).

A produção de Bt em escala industrial é realizada em três plantas de bio-pesticidas, duas na Província de Havana e uma na região central do país. Essas plantas geram produtos com concentrações mais altas de unidades infectantes e a estabilidade pode ser mantida por até seis meses à temperatura ambiente. O tempo de produção varia de 72 a 96 horas e o produto alcança concentrações de 4 a 6×10^9 esporos/mL. Essas plantas apresentam eficiência de produção superior a 90% e os custos de produção estão na faixa de US\$ 0,50 a US\$ 0,60/L (Fernández-Larrea, 2001).

Os produtos são usados principalmente no controle de lepidópteros desfoliadores, especialmente em verduras e legumes. O produto gerado pode ter características acaricidas e, neste caso, é usado em citros e batata, entre outros. A variedade Bti é empregada para controle de mosquitos vetores de doença (Fernandez-Larrea, 1999).

Em 1988, foram produzidas 123,6 toneladas métricas, que foram aplicadas em 30.000 ha. Desde 1993 até a conclusão deste capítulo, produziram-se anualmente, na forma estável, mais de 1.000 toneladas métricas de Bt (sendo 24% nas plantas industriais), aplicadas em uma área superior a 120.000 ha. Cada planta industrial produz entre 120.000 e 200.000 L de produto fermentado/ano e essa capacidade pode ser aumentada (Fernández-Larrea, 2002).

Atualmente é também utilizado, de forma generalizada, o método de produção artesanal por FES, no qual se utilizam grãos de arroz, que são inoculados com suspensões de esporos de Bt, incubados por sete dias sob temperatura controlada entre 27 e 28°C, obtendo-se concentrações de esporos e cristais entre 6×10^8 e 1×10^9 por grama (O. F. L. Vega, Inisav, comunicação pessoal, 2006) (**Prancha VIIIId**).

A produção é controlada por meio de um padrão cubano de controle de qualidade que inclui a pureza do produto, concentração de unidades infectivas e eficácia biológica. Todos os produtos são registrados no Escritório de Registro de Pesticidas (Fernández-Larrea, 1993).

Produção de Bt no México

Entre os entomopatógenos para controle biológico pesquisados no México, Bt é o mais estudado, especialmente por grupos de pesquisa do Centro de Investigaciones y de Estudios Avanzados del IPN (Cinvestav), Universidad Autónoma de Nuevo León e Universidad Nacional Autónoma de México (Aranda et al., 2000). Tais estudos permeiam temas como isolamento e seleção de cepas até mecanismos de ação das toxinas, genética microbiana e produção em fermentação submersa.

O processo FES foi considerado interessante para a produção de cepas nativas, mexicanas, de Bt em sistemas denominados rurais locais, onde uma produção mais voltada às necessidades das comunidades definidas seria viabilizada por integração entre pesquisa e produtores. Aranda et al. (2000) apresentam uma

proposta de reator de bandejas que pode ser adaptado para tal produção local rural, utilizando bandejas plásticas de 2 cm de profundidade. No sistema proposto, a câmara de fermentação, onde são instaladas as bandejas, tem umidade semicontrolada e temperatura controlada, e há circulação de ar.

Os substratos sugeridos são resíduos agroindustriais disponíveis na região, especialmente quirera de arroz e bagaço de cana-de-açúcar, podendo ser complementados com farelo de milho ou de soja. Em experimentos de laboratório, obtiveram-se $2,9 \times 10^9$ esporos/g de peso seco.

Produção de Bt no Peru

A produção de Bt no Peru é desenvolvida por um grupo de pesquisadores da Universidade Peruana Cayetano Heredia e do Instituto Medicina Tropical Alexander von Humboldt. Algumas apresentações em conferências internacionais foram realizadas pela Dra. Palmira Ventosilla e por seus colaboradores, H. Guerra, J. Merello, B. Infante e E. Reyes.

Esse país produz Bt variedade *israelensis* em meio contendo coco, mandioca e aspargos, por processo artesanal, local, em meio líquido. O coco inteiro é usado como um biorreator e sua água é o meio de cultivo, inoculado com a cepa determinada e deixado fermentar em salas a temperatura ambiente. O produto assim obtido foi usado contra alguns vetores de doenças tropicais (malária) que se desenvolvem em poços artificiais. Como em outros países latino-americanos, um cuidado especial é tomado com o controle de qualidade dos produtos obtidos. Segundo Aranda et al. (2000), a produção de esporos pode chegar a $2,2 \times 10^5$ /mL, com atividade contra *Anopheles albimanus*.

A chave para o sucesso desse processo artesanal no controle de vetores de doenças é a participação da comunidade no programa de controle. Alguns cursos teórico-práticos também são oferecidos pelo grupo a outros pesquisadores interessados (P. Ventosilla, Universidad Peruana Cayetano Heredia, comunicação pessoal, 2006).

Produção de Bt e outros bioprodutos na Colômbia

Na Colômbia, problemas como baixa recomendação profissional de uso, indicações não direcionadas para pragas-alvo específicas e baixa disponibilidade de produtos microbianos à base de bactérias no mercado, aliados ao desinteresse das indústrias em suprir mercados com baixos volumes de consumo, tornam o controle microbiano pouco atrativo para os produtores.

Guarín (2001) indicou para os agricultores da Colômbia a multiplicação de *B. popilliae*, *in vivo*, na propriedade, em virtude das características do microrganismo (não se consegue produzi-lo por fermentação). Segundo o autor, nos locais onde a praga tem importância econômica para pequenos agricultores, vem sendo

realizado levantamento de inimigos naturais. Nesses levantamentos, detectou-se, em regiões distantes entre si, como nos Estados de Cauca, Antioquia e Tólima, que a bactéria *B. popilliae* é importante como reguladora de populações da praga. Somada a esses levantamentos, tem sido feita a difusão entre agricultores de metodologias artesanais da produção *in vivo* da bactéria. É fato, finalmente, o acompanhamento dos produtores rurais que cultivam batata, feijão, hortaliças, pastagem e arracacha (*Aracacia xanthorrhiza*).

Alguns esforços para o uso comercial da bactéria *B. popilliae* por produtores de flores têm reduzido a doença leitosa. Tais esforços se concentram nas etapas de maceração dos insetos infectados e sua mistura com talco. Esses trabalhos estão em execução no Estado de Antioquia, que fornece o material a outros Estados, como Cauca.

Segundo Jairo Cerón (Universidad Nacional de Colombia, comunicação pessoal, 2006), o Instituto de Biotecnologia da Universidad Nacional de Colômbia realiza estudos de aspectos básicos e aplicações sobre Bt para o controle de *Spodoptera frugiperda* e *Tecia solanivora*. São realizadas produções por fermentação de até 100 L/batelada e estão em processo de ampliação de escala para 1.000 L. O produto resultante é formulado na forma de pó-molhável, granulado, microencapsulado e em tabletes de liberação controlada, para controle de mosquitos. Como controle de qualidade, realizam-se avaliações de eficiência em campo, estudos de estabilidade etc. (Bravo & Ceron, 2004).

Pelo menos outros dois grupos estudam a produção de Bt na Colômbia. Um deles é coordenado pelo Dr. Sérgio Orduz, docente da pós-graduação em entomologia do Campus Medellín da Universidad Nacional da Colômbia, que estuda processos fermentativos e desenvolve novas formulações de Bt para controle de pragas da agricultura, grãos armazenados, como também de culicídeos vetores de doenças ao homem. Neste campo, o grupo caracterizou e tem estudado Bt *medellin*, uma sorovariedade tóxica para mosquitos (Orduz et al., 1992 e 1994). Outro grupo é coordenado pela Dra. Graciela Chalela Alvarez, atuando na Universidad Industrial de Santander. Infelizmente, não estão disponíveis maiores informações sobre processo de produção e meios de cultura utilizados.

Produção de Bt na Argentina

Os primeiros estudos sobre aspectos da fermentação e produção de bioinseticidas à base de Bt foram realizados por pesquisadores do Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales da Universidad Nacional de La Plata (Arcas, 1985; Arcas et al., 1987).

No início da década de 1990, os Drs. Graciela Benintende e Jorge Cozzi, do laboratório da área de processos fermentativos do Instituto Nacional de Tecnología Agropecuária, adaptaram e, em alguns casos, desenvolveram tecnologia para produzir um bioinseticida nacional à base de Bt para controlar lepidópte-

ros-praga da agricultura. Foi desenvolvido um pacote tecnológico completo para a produção, avaliação e emprego desse bioinseticida. Foram propostos meios de cultivo líquidos, adequados para fermentação em larga escala, formulados com ingredientes de baixo custo, inclusive resíduos da agroindústria, levando em consideração a disponibilidade contínua desses materiais e sua homogeneidade e padrão de qualidade de diferentes partidas.

Os estudos de produção foram efetuados em equipamentos semi-automatizados, com capacidade entre 8 e 50 L. Também foram ajustados bioensaios para avaliação da produtividade dos cultivos, utilizando larvas de *Anticarsia gemmatalis* e um padrão de referência internacional para expressar a atividade em termos de potência. Com esses trabalhos, um bioinseticida foi formulado como pó-molhável, de muito baixo custo de produção e cuja estabilidade e eficiência foi comprovada em estudos de laboratório e campo (**Prancha VIIIif**).

Foram determinados no laboratório os aspectos físico-químicos da formulação quanto à granulometria, estabilidade das suspensões e da atividade tóxica durante o armazenamento. A eficiência dos produtos foi comprovada, em campo, para diferentes pragas e cultivos de importância agropecuária. Na cultura de alfafa, a praga visada foi *Colias lesbia* (Benintende et al., 1994); em cultivo de soja, foram controladas *A. gemmatalis* e *Rachiplusia nu*. A formulação também foi testada na cultura de algodão para a praga *Alabama argillacea*. Na cultura do tomate, foram feitos testes para o controle de *Tuta absoluta* (Polack & Benintende, 2002).

No final da década de 1990, além dos produtos importados disponíveis, algumas empresas privadas locais lograram registrar produtos nacionais à base de Bt para controle de lagartas desfolhadoras. Sem dúvida, o mercado argentino está subabastecido desses bioinsumos para controle de lepidópteros em geral. Os inseticidas biológicos são muito caros e, por isso, salvo alguns segmentos de mercado muito específicos, como o dos produtores orgânicos, o restante dos produtores opta por alternativas mais baratas. O mercado potencial poderá ser muito interessante, se for possível desenvolver um produto competitivo em preço e qualidade, assegurando a continuidade de oferta no mercado (Polack & Benintende, 2002).

Considerações finais

Até a década de 1980, os propósitos de pesquisa sobre bactérias entomopatogênicas se concentravam no desenvolvimento de processos, pesquisa de meios de cultura economicamente viáveis, parâmetros e variáveis de produção, conhecimento da estrutura e modo de ação desses microrganismos. A partir de 1990, as pesquisas foram efetuadas visando a conhecer como os produtos à base de Bt interagem com o ambiente, fortificando as bases para um uso ecologicamente seguro desses produtos. Esses trabalhos têm um enfoque fortemente inter, trans e multidisciplinar.

Na produção de inseticidas bacterianos eficazes, a multidisciplinaridade é fundamental para a etapa do processo fermentativo de produção. Alguns aspectos são importantes, como a obtenção de uma formulação, adequada taxa de propagação do agente, manutenção da virulência e estabilidade do produto no campo, baixo custo de produção, como também estabelecimento de medidas de biossegurança.

Diante do grande potencial de aplicação de bactérias entomopatogênicas no controle de pragas agrícolas e da saúde pública, da sua utilização crescente em outros continentes e da simplicidade dos processos de produção aqui relacionados, os quais não requerem tecnologia sofisticada, a obtenção de produtos bacterianos na América Latina pode ser considerada ainda incipiente. Com exceção de Cuba, onde o estabelecimento de um programa de produção em rede foi motivado pelos altos custos da importação de produtos para o controle de pragas, o que existe em outros países são iniciativas pontuais, geralmente de grupos isolados de pesquisadores conscientes das vantagens e da viabilidade de produção e uso desses produtos, em substituição aos agrotóxicos.

No Brasil, considere-se que desde 2004 a Bthek vem produzindo o Bti e o Bs, o Bt-horus SC lançado em abril de 2005, bem como o Sphaerus SC. Registre-se também a instalação da Probiom Tecnologia em 2005, incubada na Ciatec, Campinas, SP.

Uma reflexão sobre os motivos da utilização ainda limitada dos inseticidas bacterianos na América Latina é importante para orientar ações no sentido de ampliar o seu uso e estimular a produção local. Podem ser apontados como fatores limitantes à expansão do uso de produtos biológicos o desconhecimento das vantagens e da facilidade operacional, a pressão constante de venda exercida pela indústria de agrotóxicos, a cultura de confiança nos inseticidas sintéticos, bem como o desconhecimento da relação positiva benefício/custo (apesar de o preço dos produtos poder ser alto em alguns casos, os resultados são muito positivos, especialmente quando se considera a segurança ambiental e à saúde humana).

Do ponto de vista da produção de inseticidas bacterianos na América Latina, constata-se a existência de bons produtos, competitivos quanto à eficiência e quanto à qualidade com produtos disponíveis no mercado internacional, desenvolvidos por grupos competentes de pesquisadores. O ponto crítico parece ser a transposição para o setor produtivo, um passo que depende do fortalecimento da confiança no produto por parte dos usuários e também no mercado, por parte da iniciativa privada.

São mencionadas com frequência, entre os fatores de desestímulo à produção de biopesticidas, as exigências de registro: são caras, demoradas de se obter e muito complexas. Isso indica que devem ser redobrados os esforços para que as avaliações sejam mais simples, porém adequadas e, portanto, mais baratas, para tais produtos biológicos, por serem menos danosos ao ambiente.

Como opções para o processo de geração do produto à base de bactérias entomopatogênicas, a produção local em menor escala desponta como uma opção interessante para a América Latina. Pode-se facilmente apontar vantagens que resultam da produção local de inseticidas microbianos, em pequena ou média escala, nos países em desenvolvimento: estabilidade — redução do risco de perda de toxicidade pelo transporte e armazenamento por períodos prolongados em temperaturas variáveis; formulações — a produção local permite o desenvolvimento de formulações simples e adequadas às condições ambientais locais específicas e aos insetos alvo naquela região; biodiversidade — a produção local explora a oportunidade dos microrganismos locais para serem utilizados em todo o país; ambientalmente correto — as plantas de produção utilizam resíduos agroindustriais locais como substrato, o que resulta na redução da contaminação ambiental e também dos custos de produção. Outro ponto de destaque é a economia de recursos financeiros, por reduzir a importação de inseticidas sintéticos.

A pesquisa nos países latino-americanos seria igualmente fortalecida: a busca de novas formulações que protejam os biopesticidas da radiação solar, do arraste provocado pela chuva e de outros fatores ambientais; seleção de novas cepas naturais ou de recombinantes que expressem mais de uma toxina e que permitam obter produtos de maior espectro de ação, atingindo novos nichos ecológicos; estabelecimento de novas estratégias de aplicação que reduzam as chances de desenvolvimento de resistência dos insetos alvo; desenvolvimento de tecnologias de produção mais eficientes e econômicas; aproveitamento de mão-de-obra local, geração de empregos; o desenho de equipamentos para produção e aplicação de biopesticidas, mais simples ou de menor custo, são algumas das linhas que se pode vislumbrar.

Há inúmeras possibilidades de programas de cooperação na América Latina que podem ser apontadas: novos processos fermentativos, como a FES para produção artesanal; estudos intensivos de impactos ambientais de biopesticidas para promover confiança nesses organismos e também melhorar sua utilização; desenvolvimento de metodologias e estudos para apoiar decisões de políticas públicas. Essa interação é estimulante e a troca de experiências entre países com grau de desenvolvimento semelhante traz o benefício do baixo custo, aliado e alinhado às prioridades dos fundos de financiamento científico e tecnológico dos países. Dentro do âmbito de colaboração multi-institucional, envolvendo grupos de pesquisas do México, Brasil, Colômbia, Argentina, Chile, Costa Rica e Espanha, está em desenvolvimento um projeto com os objetivos de: identificar cepas latino-americanas com alto nível de toxicidade contra pragas da agricultura e culicídeos vetores de doenças endêmicas de grande importância na América Latina; desenvolver produtos utilizando as cepas selecionadas e oferecer estudos pós-graduados a interessados. Nesse projeto, cepas de Bt com elevada atividade larvicida contra mosquitos dos gêneros *Culex*, *Anopheles* e *Aedes* (Ibarra et al., 2003) e contra *Spodoptera fugiperda* (Silva et al., 2004), dentre outras de outros

grupos, foram selecionadas a partir de coleções de cepas nativas mantidas em instituições dos diferentes países. Algumas dessas cepas produzem novas toxinas, atestando a importância de explorar a rica biodiversidade latino-americana em busca de novos agentes entomopatogênicos.

Certamente se poderá chegar a melhores métodos de produção, utilização e aplicação de bactérias entomopatogênicas e suas toxinas, na busca e desenvolvimento de estudos em cooperação entre países e com equipes multidisciplinares, a exemplo dos grupos mencionados anteriormente.

Em complemento, uma íntima relação entre indústria, ciência, usuários, agricultura e governos permitirá o desenvolvimento do mercado para esses produtos, que se prevê como de grande crescimento para um futuro muito próximo, com a oferta de muitos processos inovadores.

Referências bibliográficas

- AIZAWA, K. Registration requirements and safety considerations for microbial pest control agents in Japan. In: LAIRD, M.; LACEY, L. A.; DAVIDSON, E. W. (eds.). *Safety of microbial insecticides*. Boca Raton, FL: CRC Press Inc., 1990. p. 31-9.
- ALVES, S. B. (ed.). *Controle microbiano de insetos*. 2. ed. Piracicaba, SP: Fealq, 1998. 1163p.
- ARANDA, E.; LORENCE, A.; TREJO, M. R. Rural production of *Bacillus thuringiensis* by solid state fermentation. In: CHARLES, J. F.; DELECLUSE, A.; NIELSEN-LE-ROUX, C. (eds.). *Entomopathogenic bacteria: from laboratory to field application*. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2000. p. 317-32.
- ARCAS, J. A. *Producción de bioinsecticidas*. La Plata, 1985. 126p. Tese (Doutorado). Fac. Ciências Exatas. Univ. Nac. de La Plata.
- ARCAS, J. A. Fermentación em estado sólido — consideraciones generales. In: MORAES, R. O. (ed.). *Fermentação semi-sólida na obtenção de bioprodutos*. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2002. (CD-Rom).
- ARCAS, J. A.; YANTORNO, O. M.; ERTOLA, R. J. Effects of high concentration of nutrients on *Bacillus thuringiensis* cultures. *Biotechnol. Lett.* 9: 105-10, 1987.
- ARRUDA, R. O. M. *Determinação da viabilidade de Bacillus thuringiensis após processos de secagem*. Campinas, SP, 1993. 92p. Dissertação (Mestrado). Feagri/Universidade Estadual de Campinas.
- ARRUDA, R. O. M. *Estudo da fermentação semi-sólida para produção de Bacillus thuringiensis*. São Paulo, SP, 1999. 87p. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP.
- ARRUDA, R. O. M.; MORAES, I. O. Pasteurização de substrato fermentativo com microondas. *Farmácia e Química*, 36 (3): 28-33, 2003.
- ARRUDA, R. O. M.; MORAES, I. O. Preliminary tests of culture media microwave sterilization in an alternative bioreactor used for *Bacillus thuringiensis*. In: III ENCUESTRO LATINO AMERICANO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL. Redbio 98. La Habana, Cuba, 1998. v. 1, p. 452-3.

- BENINTENDE, G.; COZZI, J.; VES LOSADA, J.; VILLATA, C. Eficacia de *Bacillus thuringiensis* en el control de *Colias lesbia* en cultivos de alfalfa. In: IV SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO. *Anais*. Brasil, Gramado, 1994. p. 148.
- BERNHARD, K.; UTZ, R. Production of *Bacillus thuringiensis* insecticides for experimental and commercial uses. In: ENTWISTLE, P. F.; CORY, J. S.; BAILEY, M. J.; HIGGS, S. (eds.). *Bacillus thuringiensis, an environmental biopesticide: theory and practice*. England: John Wiley, 1993. p. 255-67.
- BRAVO, A.; CERON, J. *Bacillus thuringiensis en el control biológico*. Bogotá, Colômbia: Ed. Buena Semilla, 2004. 293p.
- CAPALBO, D. M. F. *Desenvolvimento de um processo de fermentação semi-sólida para obtenção de Bacillus thuringiensis Berliner*. Campinas, SP, 1989. 159p. Tese (Doutorado). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Unicamp.
- CAPALBO, D. M. F.; MORAES, I. O. Production of proteic protoxin by *Bacillus thuringiensis* by semi-solid fermentation. In: XXII SIMPÓSIO ANNUAL DA ACADEMIA DE CIÊNCIAS DO ESTADO DE SÃO PAULO. *Anais*. Brasil, Campinas, 1988. v. 2, p. 46-55.
- CAPALBO, D. M. F.; MORAES, I. O. Use of agro-industrial residues for bioinsecticidal endotoxin production by *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* or *kurstaki* in solid state fermentation. In: ROUSSOS, S.; LONSANE, B. K.; RAIMBAULT, M.; VINIEGRA-GONZALES, G. (eds.). *Advances in solid state fermentation*. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publ., 1997. p. 475-82.
- COUCH, T. L. Industrial fermentation and formulation of entomopathogenic bacteria. In: CHARLES, J. F.; DELECLUSE, A.; NIELSEN-LEROUX, C. (eds.). *Entomopathogenic bacteria: from laboratory to field application*. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2000. p. 297-316.
- DEL BIANCHI, V. L.; MORAES, I. O.; CAPALBO, D. M. F. Fermentação semi-sólida. In: LIMA, U. A. et al. (ed.). *Série biotecnologia industrial — Engenharia bioquímica*. São Paulo: Editora Edgard Blücher, 2001. v. 2, p. 247-76.
- EMBRAPA pesquisa controle do mosquito da dengue. Agência Brasil. Ciência, Tecnologia & Meio Ambiente [online]. 2002. Disponível na Internet via WWW. URL: http://www.radiobras.gov.br/ct/2002/materia_150302_3.htm. Acessado em 15 mar. 2002.
- FERNÁNDEZ-LARREA, O. V. Norma de especificaciones para el control de la calidad de las producciones de BT CEN. *Normas Cubanas*, 1993. 6p.
- FERNÁNDEZ-LARREA, O. V. A review of *Bacillus thuringiensis* (Bt) production and use in Cuba. *Biocontrol News and Information*, 20(1): 47-8, 1999.
- FERNÁNDEZ-LARREA, O. V. Tecnologías para la producción de biopesticidas a base de *Bacillus thuringiensis* Berliner y su control de la calidad. In: *Temas interesantes acerca del Control microbiológico de plagas*. La Habana, Cuba: Inisav, 2001. p. 19-30.
- FERNÁNDEZ-LARREA, O. V. Tecnologías de producción de *Bacillus thuringiensis*. *Manejo integrado de plagas y agroecología*, 64: 110-15, 2002.
- FERNÁNDEZ-LARREA, O. V.; LAGUARDIA, E.; CALDERON, A. Obtención de un fluido concentrado de *Bacillus thuringiensis*. *Rev. Fitosanidad.*, 1(1-4): 60-4, 1997.
- GUARÍN, J. H. Caracterización de la enfermedad lechosa y evaluación de la patogenicidad de su agente causal *Bacillus popilliae* sobre *Phyllophaga obsoleta* Blach. (Coleoptera: Melolonthidae). *Revista Actualidades Corpoica*, 15(112): 15-23, 2001.

- IBARRA, J.; RINCÓN, M. D.; ORDUZ, S.; NORIEGA, D.; BENINTENDE, G.; MONNERAT, R.; REGIS, L.; OLIVEIRA, C. M. F.; LANZ, H.; RODRIGUEZ, M. H.; DÁNCHEZ, J.; PEÑA, G.; BRAVO, A. Diversity of *Bacillus thuringiensis* strains from Latin America with insecticidal activity against different mosquito species. *Appl. Env. Microbiol.*, 69(9): 5.269-74, 2003.
- IGNOFFO, C. M.; ANDERSON, R. F. Bioinsecticides. In: PEPPLER, H. J.; PERLMAN, D. (eds.). *Microbial technology*. 2. ed. New York: Academic Press, 1979. v. 1, p. 1-28.
- KHEATAN, S. K. *Microbial pest control*. New York: Marcel Dekker Inc., 2001. 300p.
- LUNA, C. L. *Separação de esporos de Bacillus sphaericus 2362 por floculação*. Recife, PE, 1999. 106p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco.
- LUNA, C. L.; LOPES, C. E.; MASSARANI, G. Recovery of *Bacillus sphaericus* 2362 spores from growth medium by flocculation/sedimentation. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 25: 213-6, 2003a.
- LUNA, C. L.; MELO-SANTOS, M. A. V.; LOPES, C. E.; MASSARANI, G.; REGIS, L.; RIOS, E. M. Produção, formulação e aplicação em campo de comprimidos à base de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. In: VIII SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO. *Anais*. Brasil, São Pedro, 2003b. p. 86.
- MEDUGNO, C. C.; LESSA, M. D. *Irreversible coating particles and compositions containing these particles*. Patent Number Inpi-PCT BR 00/00112, 2000.
- MELO-SANTOS, M. A. V.; SANCHES, E. G.; DE JESUS, F. J.; REGIS, L. Evaluation of a new tablet formulation based on *Bacillus thuringiensis* serovar. *israelensis* for larvicidal control of *Aedes aegypti*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 96(6): 859-60, 2001.
- MORAES, I. O. *Bacterial insecticide production using submerged fermentation*. Campinas, SP, 1973. 70p. Dissertação (Mestrado) FEA/ Unicamp.
- MORAES, I. O. *Estudos de fermentação submersa na obtenção de inseticida bacteriano em mini-fermentador*. Campinas, SP, 1976a. 77p. Tese (Doutorado). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Unicamp.
- MORAES, I. O. *Processo de fermentação submersa para produção de inseticida bacteriano*. Inpi BR Patente 7608688, 1976b.
- MORAES, I. O. *Processo de produção de toxina termoestável de Bacillus thuringiensis*. Inpi BR Patente 8500663, 1985.
- MORAES, I. O. Production and utilization of *B. thuringiensis* for crop protection. In: SALAMA, H. S.; MORRIS, O. N.; RACHED, E. (eds.). *The biopesticide Bacillus thuringiensis and its applications in developing countries*. Egypt, Al Ahram: Comm. Press., 1993. p. 227-32.
- MORAES, I. O. Produção de microrganismos. In: LIMA, U. A. et al. (eds.). *Biotecnologia industrial*. São Paulo: Edgar Blücher, 2001. v. 3, p. 199-217.
- MORAES, I. O.; CAPALBO, D. M. F. The use of agricultural products as culture media for bioinsecticide production. In: LE MAUGUER, M.; JELEN, P. (eds.). *Food engineering and process applications*. London: Elsevier Appl. Sci. Publ., 1985. p. 371-81.
- MORAES, I. O.; ARRUDA, R. O. M.; TAMBOURGI, J. E.; MORAES, R. O.; PELIZER, L. H.; CAPALBO, D. M. F.; DEL BIANCHI, V. L. The history of *Bacillus thuringiensis* development in Brazil. In: V ITALIAN CONFERENCE ON CHEMICAL AND PROCESS ENGINEERING. *Proceedings*. Itália, Florença, 2001b. v. 2, p. 1061-3.

- MORAES, I. O.; CAPALBO, D. M. F.; ARRUDA, R. O. Produção de bactérias entomopatogênicas. In: ALVES, S. B. (ed.). *Controle microbiano de insetos*. Piracicaba, SP: Fealq, 1998. p. 815-43.
- MORAES, I. O.; CAPALBO, D. M. F.; ARRUDA, R. O. Solid and liquid waste utilization in fermentation process to get bacterial insecticide. In: SPINESS, W. E. L.; SHUBERT, H. (eds.). *Engineering and food advanced processes*. London: Elsevier, 1990. v. 3, p. 785-92.
- MORAES, I. O.; CAPALBO, D. M. F.; MORAES, R. O. By-products from food industries: utilization for bio insecticide production. In: YANO, T.; MATSUNO, R.; NAKAMURA, K. (eds.). *Developments in food engineering*. Tokio, Japão: Chiyoda — Ku, 1994. p. 1020-2.
- MORAES, I. O.; CAPALBO, D. M. F.; MORAES, R. O. M. Produção de bioinseticidas. In: LIMA, U. A. et al. (eds.). *Biotecnologia industrial*. São Paulo: Edgar Blücher, 2001a. v. 3, p. 249-78.
- MORAES, I. O.; CAPALBO, D. M. F.; ARRUDA, R. O. M.; PELIZER, L. H.; ERNANDES, S. *Bacillus thuringiensis* fermentation studies using agroindustrial residues and wastewater as substrate. In: V ITALIAN CONFERENCE ON CHEMICAL AND PROCESS ENGINEERING. *Proceedings*. Itália, Florença, 1999. v. 1, p. 415-8.
- ORDUZ, S.; DIAS, T.; THIERRY, I.; CHARLES, F. F.; ROJAS, W. Crystal proteins from *Bacillus thuringiensis* serovar medellin. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 40: 794-9, 1994.
- ORDUZ, S.; ROJAS, W.; CORREA, M. M.; MONTOYA, A. E.; DE BARJAC, H. A new serotype of *Bacillus thuringiensis* from Colombia toxic to mosquito larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*, 59: 99-103, 1992.
- PELIZER, L. H. *Estudo da influência da atividade de água na fermentação em estado sólido de Bacillus thuringiensis*. São Paulo, SP, 1997. 105p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP.
- PÉREZ, N.; VÁSQUEZ, L. L. Manejo ecológico de plagas. In: FUNES, F. (ed.). *Transformando el campo cubano: avances de la agricultura sostenible*. La Habana: Universidad Agrária de La Habana, 2001. p. 191-226.
- POLACK, L. A.; BENINTENDE, G. B. Bioinseticidas a base de *Bacillus thuringiensis* como alternativa para el control de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Meyrick). In: XXV CONGRESO ARGENTINO DE HORTICULTURA Y I ENCUENTRO VIRTUAL DE LAS CIENCIAS HORTÍCOLAS, 2002. <http://www.asaho.com.br>
- REGIS, L.; SILVA-FILHA, M. H.; NIELSEN-LEROUX, C.; CHARLES, J. F. Bacteriological larvicides of dipteran disease vectors. *Trends in Parasitology*, 17(8): 377-80, 2001.
- RIOS, E. M.; LOPES, C. E.; FRANÇA, F. P. On the use froth flotation in the recovery of *Bacillus thuringiensis* spores. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 14(2): 119-25, 1997.
- ROSSET, P.; MOORE, M. La seguridad alimentaria y la producción local de biopesticidas em Cuba. *Boletín del Ilea*, 1998. p. 18-22.
- SILVA, S. M. B.; SILVA-WERNECK, J. O.; FALCÃO, R.; GOMES, A. C.; FRAGOSOS, R. R.; QUEZADO, M. T.; NETO, O. B. O.; AGUIAR, J. B.; DE AS, M. F. G.; BRAVO, A.; MONNERAT, R. Characterization of novel Brazilian *Bacillus thuringiensis* strains active against *Spodoptera frugiperda* and other insect pests. *Journal of Applied Entomology*, 128: 102-7, 2004.

TAMEZ-GUERRA, P.; GALÁN-WONG, L. J.; MEDRADO-ROLDÁN, H.; GARCÍA-GUTIÉRREZ, C.; RODRÍGUEZ-PADILLA, C.; GÓMEZ-FLORES, R. A.; TAMEZ-GUERRA, R. S. Bioinsecticidas: su empleo, producción y comercialización em México, *Ciência UANL*, 4(2): 143-52, 2001.

Apêndice

São apresentados a seguir os principais sites eletrônicos disponíveis na Internet de instituições públicas e privadas envolvidas nas áreas de pesquisa, desenvolvimento, produção e comercialização de produtos microbianos na América Latina.

Tabela 1. Centros de pesquisa, universidades e outros órgãos do governo dos países da América Latina.

Instituição	País	Site / e-mail
Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (Cepave)	Argentina	www.cepave.edu.ar
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuária (Inta)	Argentina	www.inta.gov.ar
Universidad de Buenos Aires	Argentina	www.uba.ar
Universidad Nacional de La Plata	Argentina	www.unlp.edu.ar
Universidad Nacional de Mar del Plata	Argentina	www.mdp.edu.ar
Universidad Nacional de Tucumán	Argentina	www.unt.edu.ar
Instituto Biológico de São Paulo	Brasil	www.biologico.sp.gov.br
Instituto Butantã	Brasil	www.butantan.gov.br
Universidade Estadual de Campinas (Unicamp)	Brasil	www.unicamp.br
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (Uenf)	Brasil	www.uenf.br
Universidade Federal do Paraná (Ufpr)	Brasil	www.ufpr.br
Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (Ceplac)	Brasil	www.ceplac.gov.br
Empresa Mato-Grossense de Pesquisa, Assistência e Extensão Rural (Empaer)	Brasil	www.empaer.mt.gov.br
Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio de Janeiro (Pesagro)	Brasil	www.pesagro.rj.gov.br
Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA)	Brasil	www.ipa.br
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" Universidade de São Paulo (Esalq/USP)	Brasil	www.esalq.usp.br
Empresa Agropecuária de Santa Catarina (Epagri)	Brasil	www.epagri.rct-sc.br
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa)	Brasil	www.embrapa.br
Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz)	Brasil	www.fiocruz.br
Instituto Agrônomo de Campinas (IAC)	Brasil	www.iac.sp.gov.br
Instituto Agrônomo do Paraná (Iapar)	Brasil	www.iapar.br
Instituto Biológico de São Paulo	Brasil	www.biologico.sp.gov.br
Universidade do Vale do Rio dos Sinos (Unisinos)	Brasil	www.unisinos.br
Universidade Estadual Paulista (Unesp)	Brasil	www.unesp.br
Universidade Estadual de Londrina (UEL)	Brasil	www.uel.br
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste)	Brasil	www.unioeste.br
Universidade Federal de Lavras (Ufla)	Brasil	www.ufla.br

(Continua...)

Tabela 1. Centros de pesquisa, universidades e outros órgãos do governo dos países da América Latina.

Instituição	País	Site / e-mail
Universidade Federal do Espírito Santo (Ufes)	Brasil	www.ufes.br
Universidade Federal de Pernambuco (Ufpe)	Brasil	www.ufpe.br
Universidade Federal de São Carlos (Ufscar)	Brasil	www.ufscar.br
Universidade Federal de Santa Catarina (Ufsc)	Brasil	www.ufsc.br
Universidade Federal de Viçosa (UFV)	Brasil	www.ufv.br
Universidade de Brasília (UNB)	Brasil	www.unb.br
Instituto de Investigaciones Agropecuarias (Inia)	Chile	www.inia.cl
Universidad de los Andes	Colômbia	www.uniandes.edu.co
Universidad del Valle	Colômbia	www.univalle.edu.co
Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional (Ibun)	Colômbia	www.ibun.unal.edu.co
Instituto Colombiano Agropecuario (ICA)	Colômbia	www.ica.gov.co
Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (Inisav)	Cuba	www.inisav.cu
Instituto de Ecología y Sistemática (Ecosis)	Cuba	www.ecosis.cu
Instituto Cubano de Investigaciones de Derivados de la Caña de Azúcar (Icidca)	Cuba	www.icidca.cu
Centro Nacional de Sanidad Agropecuária (Censa)	Cuba	www.censa.edu.cu
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (Cinvestav)	México	www.cinvestav.mx
Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (Cnrcb)	México	www.sagarpa.gob.mx/senasica/cnrcb.htm
Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuárias (Inifap)	México	www.inifap.gob.mx
Universidad Autónoma de Nuevo Leon (Uanl)	México	www.uanl.mx
Universidad Nacional Autónoma do México (Unam)	México	www.unam.mx
Universidad de Guanajuato	México	www.ugto.mx
Universidad Nacional Agrária (UNA)	Nicarágua	www.una.edu.ni
Universidad Nacional de Asunción – Facultad de Ciencias Agrárias	Paraguai	www.agr.una.py
Universidad Nacional Mayor de San Marcos	Peru	www.unmsm.edu.pe
Universidad Nacional de Cajamarca	Peru	www.unc.edu.pe
Servicio Nacional de Sanidad Agraria (Senasa)	Peru	www.senasa.gob.pe
Instituto Nacional de Investigación Agrária (Iniea)	Peru	www.iniea.gob.pe
Universidad Peruana Cayetano Heredia	Peru	www.upch.edu.pe
National Institute of Higher Education, Research and Technology	Trinidad y Tobago	www.niherst.gov.tt
Ministério de Ganadería, Agricultura y Pesca (Mgap)	Uruguai	www.mgap.gub.uy
Universidad de la Republica – Facultad de Agronomía (Fagro)	Uruguai	www.fagro.edu.uy
Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (Inia)	Venezuela	www.inia.gov.ve

Tabela 2. Empresas, indústrias, distribuidoras e outros órgãos da iniciativa privada dos países da América Latina.

Instituição	País	Site / e-mail
Agro Roca	Argentina	www.agrorocasa.com.ar
Comercial Química Massó S.A.	Argentina	www.massoaagro.com
Magan Argentina S.A.	Argentina	www.magan.com.ar
Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola (Coodetec)	Brasil	www.coodetec.com.br
Itaforte BioProdutos – Itaforte Industrial de BioProdutos Agro-Florestais Ltda.	Brasil	www.itafortebioprodutos.com.br
BioAgro Controle Biológico	Brasil	www.bioagro.com.br
Biocontrol – Sistema de Controle Biológico	Brasil	www.biocontrol.com.br
Biocontrole Métodos de Controle de Pragas Ltda.	Brasil	www.biocontrole.com.br
BioCana – Braz e Costa Produtos Biológicos Ltda.	Brasil	www.biocana.com.br
BioCerto	Brasil	www.biocerto.com.br
BioTech Controle Biológico Ltda.	Brasil	www.biotechbrasil.bio.br
Bthek Biotecnologia	Brasil	www.bthek.com.br
Empresa Caxiense de Controle Biológico Ltda.	Brasil	www.eccb.com.br
EcoSafe A.M.A. Ltda.	Brasil	www.ecosafe.agr.br
Probiom – Indústria e Comércio de Bioprodutos Ltda.	Brasil	www.probiom.com.br
Nitral Urbana	Brasil	www.nitralurbana.com.br
Swedish Match	Brasil	www.swedishmatch.com.br
Turfal Biotecnologia Agrícola	Brasil	www.turfal.agr.br
Agro-Connexion	Chile	www.connexion.cl
Bio-Insumos Nativa Ltda.	Chile	www.bionativa.cl
Probical	Chile	www.probical.cl
Agroquímicos Genéricos	Colômbia	www.agrogen.com.co
Agrobiológicos Safer	Colômbia	www.agrobiologicossafer.com
Hortitec Colombia S.A.	Colômbia	www.hortitec-colombia.com
Edafon – Fundación Agroecologica	Colômbia	www.controlbiologico.com
LST – Live Systems Technology S.A.	Colômbia	www.lstsa.com
Orius Biotecnologia	Colômbia	www.oriusbiotecnologia.com
Productos Biologicos Prekins Ltda.	Colômbia	www.perkinsltda.com.co
Proficol S.A.	Colômbia	www.proficol.com.co
Laverlam S.A.	Colômbia	www.laverlam.com.co
Laica / Dieca	Costa Rica	www.laica.co.cr
Labiofam S.A.	Cuba	labiofam@ceniai.inf.cu
Agrícola El Sol	Guatemala	www.agricolaelsol.com
Biotropic S.A. de CV	México	www.biotropic.com.mx
Certis L.L.C México	México	www.certis.com.mx
Agrobiológicos del Noroeste S.A. de C.V. (Agrobionsa)	México	agrobionsa@hotmail.com
Nicaragua Sugar States	Nicarágua	www.nicaraguasugar.com
UCA Mirafior	Nicarágua	mirafior@ibw.com.ni
Servicio Agrícola Gurdian S.A.	Nicarágua	sagsa@tmx.com.ni
Formunica	Nicarágua	www.formunica.com
Lage S.A.	Uruguai	www.lageycia.com

Tabela 3. Cooperativas e ONGs dos países da América Latina.

Instituição	País	Site / e-mail
Centro de Tecnologia Canaveira (CTC)	Brasil	www.ctc.com.br
Incubadora de Empresas Ciatec	Brasil	www.ciatec.org.br
Productividad Biosfera y Medio Ambiente (Probioma)	Bolívia	www.probioma.org.bo
Programa de Investigaciones de Papa (Proinpa)	Bolívia	www.proinpa.org
Bioplaguicidas	Costa Rica	www.bioplaguicidas.org
Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (Catie)	Costa Rica	www.catie.ac.cr
Corporación Nacional para Investigaciones Biológicas (CIB)	Colômbia	www.cib.org.co
Centro de Investigación en Palma de Aceite (Cenipalma)	Colômbia	www.cenipalma.org
Corporación para el Desarrollo Industrial de la Biotecnología y Producción Limpia (Corpodib)	Colômbia	www.corpodib.com
Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica)	Colômbia	www.corpoica.org.co
Centro Internacional de Agricultura Tropical (Ciat)	Colômbia	www.ciat.cgiar.org
Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé)	Colômbia	www.cenicafe.org
Federación Nacional de Cafeteros de Colombia	Colômbia	www.cafedecolombia.com
Sociedade Colombiana de Entomología (Socolen)	Colômbia	www.socolen.org.co
Centro de Control Biológico de Centroamérica de Zamorano	Honduras	www.zamorano.edu
Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (Cirad)	internacional	www.cirad.org.br
Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA)	internacional	www.iica.int
International Biocontrol Manufacturers Association (Ibma)	internacional	www.ibma.ch
Comité Estatal de Sanidad Vegetal (Cesaveg)	México	www.cesaveg.org.mx
Agrotécnica Murciana S.L.	Paraguai	www.agrotecnicamurciana.com
Centro Internacional de la Papa (CIP)	Peru	www.cipotato.org
Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (Inia)	Uruguai	www.inia.org.uy

