

## Capítulo 2

# **A Indústria no Controle Biológico: Produção e Comercialização de Microrganismos no Brasil**

Rogério Biaggioni Lopes

*Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia - CP 02372; 70770-900, Brasília, DF, Brasil,  
e-mail: rblopes@cenargen.embrapa.br*

## **Introdução**

O controle biológico de pragas e doenças constitui-se em um processo importante para atender a demanda, cada vez maior, de produtos e alimentos livres de resíduos deixados pelas aplicações de agrotóxicos. A sociedade vem pressionando os setores de produção na direção do aumento da oferta de alimentos mais saudáveis, a exemplo dos protocolos estabelecidos pelo mercado europeu que visam a segurança alimentar do consumidor. O Brasil e outros países, que tem na agricultura a base da sua economia, já sentem essa necessidade e começam a implantar sistemas mais sustentáveis de produção integrada, onde o controle biológico é ferramenta indispensável. Além da preocupação relacionada aos resíduos de agrotóxicos nos alimentos, a questão ambiental está diretamente associada a esse ensejo social de mudança do padrão químico convencional para métodos integrados de produção. A viabilidade econômica de um sistema de produção é um fator que afeta diretamente o agricultor e talvez deva ser o primeiro a ser considerado para a maior aceitação do controle biológico. Se existem viabilidade econômica e eficácia no método, existe também o estímulo para o agricultor usar o insumo biológico.

O conhecimento sobre microrganismos como agentes de controle de pragas e doenças de plantas remonta a centenas de anos. Contudo, o controle microbiano nas áreas da entomologia, que visa ao emprego de microrganismos no controle de insetos e ácaros, e fitopatologia, relacionada ao uso de antagonistas no controle de doenças de plantas, evoluiu de forma diferente.

Os primeiros indícios referentes às doenças dos insetos surgiram há quase 5.000 anos, quando as abelhas e o bicho-da-seda eram explorados pelos egípcios e chineses. Os ensinamentos básicos da patologia de insetos foram elaborados entre os séculos XVIII e XIX e ministrados por grandes cientistas como Agostino Bassi, Louis Pasteur e Réaumur. Nessa mesma época ocorreram também as primeiras aplicações de vírus e fungos para o controle de insetos (Alves, 1986/1998). Uma das fases mais importantes da patologia de insetos foi a descoberta da bactéria *Bacillus thuringiensis* no início do século XX. Depois desse período, o controle microbiano de insetos teve grandes avanços, chegando até a Era da Engenharia Genética e dando origem às plantas transgênicas que envolvem linhagens de *Bacillus thuringiensis*. No Brasil, os primeiros bioinseticidas surgiram na década de 1950 e poucos anos mais tarde já existiam produtos comerciais com diferentes microrganismos e importantes programas de controle de pragas implantados no país, inclusive ligados ao governo federal e órgãos estaduais.

Por outro lado, até o início do século XX pouco se conhecia sobre a ação de microrganismos no controle de fitopatógenos. Sabia-se que determinadas técnicas de manejo do solo favoreciam alguns microrganismos, reduzindo a incidência de doenças em raízes, contudo, não se conheciam os mecanismos envolvidos no controle. No começo da década de 1920 foram realizados os primeiros estudos sobre a ação de antagonistas em fungos causadores de tombamento. Os primeiros produtos para o controle de doenças surgiram 40 anos mais tarde, mas somente na década de 1970 foi que se criou a base conceitual e científica sobre o método de controle microbiano de doenças de plantas. No Brasil, a produção e comercialização de antagonistas, com destaque para o fungo *Trichoderma*, iniciaram em meados dos anos de 1990. Apesar de mais recente, há grande interesse dos pesquisadores pela área de controle biológico de doenças de plantas, o que certamente formará nos próximos anos uma base de informações mais sólida sobre o assunto.

Atualmente, o uso de agentes de biocontrole encontra-se bem difundido em diversos países. Entretanto, é uma estratégia ainda em crescimento na América Latina (Alves *et al.*, 2008b). Uma das razões para tal fato, além de aspectos sócio culturais, está relacionada à pequena quantidade de produtos disponíveis no mercado nacional. A produção massal de agentes de controle de pragas e doenças, viabilizando o fornecimento de grandes quantidades do microrganismo, é importante para a evolução desse método de controle no país. Muitos programas de controle biológico com microrganismos utilizam a estratégia de inundação, na qual o agente de controle deve estar disponível em grandes quantidades. Mesmo para estratégias inoculativas, que ocorrem com determinada periodicidade, a disponibilidade de um produto microbiano para o agricultor nas épocas mais favoráveis à aplicação é imprescindível.

O objetivo desse capítulo é relatar a evolução do método de controle microbiano, no que se refere à produção industrial e comercialização de microrganismos no Brasil, o potencial dos insumos microbianos e os progressos e dificuldades nessa fase do processo de controle biológico de pragas e doenças.

## Produção Industrial de Microrganismos

A multiplicação de microrganismos pode ser feita *in vivo*, sobre o hospedeiro alvo ou alternativo, ou *in vitro*, utilizando-se de meios artificiais em condições especiais de cultivo. Isso depende das características do agente microbiano de controle. Alguns fungos e bactérias são de difícil produção em meios artificiais, mas principalmente os vírus, que são patógenos obrigatórios, necessitam do hospedeiro para sua multiplicação. Diversos fungos, bactérias e nematóides podem se desenvolver em sistemas específicos de cultivo, utilizando-se normalmente meios artificiais.

**Produção *in vivo*.** A produção massal *in vivo* ocorre quando se pretende utilizar patógenos obrigatórios visando ao controle de alguma praga ou doença. São poucos os casos em que se aplica esse método industrialmente no Brasil e normalmente estão relacionados aos vírus e alguns nematóides de insetos.

No caso das viroses, dois exemplos merecem destaque: a produção do nucleopoliedrovírus da lagarta-da-soja *Anticarsia gemmatalis* (AgMNPV) e o método de premunização de plantas com estirpes fracas de vírus.

O controle da lagarta-da-soja no Brasil com o vírus de poliedrose nuclear AgMNPV, que se iniciou na década de 1980 pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), é um dos maiores programas de controle biológico no mundo. No início, o vírus foi produzido em laboratório sobre criações do inseto em dieta artificial, como forma de disponibilizar o inóculo para posterior produção massal e aplicações em áreas maiores. Apesar de alguns esforços no começo da década de 1990 na direção da produção industrial utilizando procedimentos de criação do inseto em dieta artificial (Moscardi *et al.*, 1997; Moscardi, 1999), até 2003 a produção massal *in vivo* foi realizada principalmente a campo. A produção a campo é feita aplicando-se o vírus em concentrações acima da recomendada para o controle da praga. As aplicações são realizadas durante os meses de dezembro e janeiro, e em um único local de coleta podem ser obtidos por dia grandes quantidades de lagartas mortas por AgMNPV após a ação do microrganismo. Devem ser coletadas somente as lagartas com os sintomas e sinais característicos da infecção pelo baculovírus, evitando-se lagartas de outras espécies, lagartas infectadas com o fungo *Nomuraea rileyi* ou outros microrganismos. Ao final da coleta, todo o material deve ser acondicionado em temperaturas baixas para evitar sua deterioração (Moscardi, 1989; Moscardi, 1999; Moscardi & Sosa-Gómez, 2000; Moscardi *et al.*, 2002).

A redução nos custos de produção do vírus sobre lagartas criadas em dietas artificiais permitiu nos últimos anos o estabelecimento de biofábricas no país, obtendo-se um produto final com custo competitivo aos dos inseticidas sintéticos. A produção a campo ou em lagartas criadas em dietas artificiais, são responsáveis pelo fornecimento de toneladas de AgMNPV por ano, e chegaram a ser tratados cerca de 2.000.000 ha de soja (Moscardi & Santos, 2005; Sosa-Gómez *et al.*, 2008).

Em relação ao controle biológico de doenças de plantas é praticada no Brasil a técnica da premunização, que consiste na inoculação de estirpes fracas do vírus em plantas suscetíveis à forma severa do patógeno. Esses agentes de controle biológico são encontrados naturalmente em plantas que se sobressaem no cultivo comercial.

Há mais de 45 anos essa técnica é empregada no controle da tristeza dos citros, doença causada por um closterovírus limitado ao floema. A forma severa do vírus é capaz de infectar muitas espécies e variedades de citros. Pode causar a morte das combinações de citros em porta-enxerto de laranja azeda e induzem sintomas conhecidos pelo nome de caneluras e a produção de frutos pequenos em outras combinações de citros mais utilizadas no país. Além do uso de porta-enxertos tolerantes ao vírus, a técnica da premunização foi essencial para controle das manifestações severas da doença. Atualmente, praticamente todas as plantas de laranja Pera cultivadas no Brasil são originadas de material premunizado com estirpes fracas do vírus. A multiplicação do agente é realizada pela perpetuação de plantas matrizes e lotes premunizados (Müller & Costa, 1991). A premunização é feita antes da comercialização das mudas de citros, não existindo custos adicionais para o citricultor.

Processo semelhante é feito no caso dos vírus do mosaico PRSV-W e ZYMV que atacam as abobrinhas, algumas abóboras e outras cucurbitáceas. As perdas na produção por estirpes fortes desses vírus podem chegar a 100%, especialmente nos casos em que as plantas são infectadas no início de seu desenvolvimento e o controle químico do vetor é ineficaz. Algumas estirpes fracas são estáveis e protegem eficientemente as plantas quando premunizadas no estágio de folha cotiledonar. A produção das plantas premunizadas é bem maior do que plantas infectadas com o complexo normal do vírus e com qualidade das frutas semelhante à das plantas sadias (Rezende & Müller, 1995; Rezende & Pacheco, 1998; Rezende *et al.*, 1999; Dias & Rezende, 2000; Rabelo, 2002). Uma vez plantadas mudas premunizadas, a cultura está protegida contra o mosaico durante todo o seu ciclo de desenvolvimento. Atualmente, por meio de uma parceria entre empresa e universidade, as estirpes fracas do vírus estão sendo estudadas para serem disponibilizadas para que protejam a cultura das duas viroses simultaneamente.

Técnicas para a produção *in vivo* de nematóides entomopatogênicos das famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae foram desenvolvidas para alguns casos no país, contudo em programas pequenos e de uso localizado. O cultivo *in vivo* possui algumas vantagens, como a simplicidade e o baixo custo da matéria prima e dos equipamentos empregados. Na prática, o maior gasto nesse sistema está na manutenção de grandes populações do hospedeiro, especialmente para os casos onde se utilizam dietas para a criação em laboratório. Nesse tipo de produção, em geral são usadas larvas de outros hospedeiros de fácil manutenção, como a traça *Galleria mellonella*, um dos insetos mais empregados no mundo para criação de nematóides *in vivo*.

O gorgulho (*Conotrachelus psidii*), uma importante praga em goiabeira, é estudado com mais atenção no Estado do Rio de Janeiro. Essa praga possui uma etapa de seu ciclo de vida no solo, favorecendo o controle por nematóides entomopatogênicos. Em testes preliminares, alguns heterorabditídeos mostraram-se promissores para o controle da praga (Dolinski *et al.*, 2006). A partir desses estudos, pequenos produtores de goiaba no Rio de Janeiro passaram a utilizar uma combinação de diferentes métodos de controle contra o gorgulho-da-goiaba. Os nematóides produzidos pelos próprios agricultores são aplicados na forma de cadáveres infectados. Os produtores também fazem controle cultural retirando os

frutos com marcas de ataque do inseto que contêm larvas no seu interior, reduzindo assim a população de gorgulho do ano seguinte. O óleo de nim é aplicado como inseticida alternativo contra adultos e a torta de nim contra as larvas no solo. Eliminando os inseticidas tradicionais, estas estratégias têm efetivamente reduzido os custos de produção (Dolinski, 2006).

Esforços foram feitos em um programa experimental de produção *in vivo* e uso de nematóides mermitídeos no controle de larvas de pernilongos, em 1998 no Estado de Roraima, onde a malária é comum. O convênio, entre a Secretaria de Saúde Estadual, a Universidade Federal do Estado de Roraima e o Instituto de Medicina Tropical de Havana em Cuba, teve como objetivos o estabelecimento de sistema local de produção em larga escala do nematóide *Ramanomeris iyengari* sobre larvas do mosquito *Culex quinquefasciatus* e a realização de estudos visando ao controle das espécies de *Anopheles* predominantes na região. Aplicações em criadouros naturais durante o período de julho a agosto de 1998 proporcionaram bons níveis de parasitismo e reduções significativas na densidade populacional de larvas (Mijares & Bellini, 2000).

Além dos vírus e nematóides, exemplos de produção *in vivo* são conhecidos e relatados na literatura com outros microrganismos. Na Colômbia, agricultores multiplicam *Bacillus popilliae* na propriedade sobre o hospedeiro, em virtude das características do microrganismo e da sensibilidade das larvas de alguns besouros. Somados aos levantamentos de outros inimigos naturais, foi feita a difusão entre agricultores de metodologias artesanais da produção *in vivo* da bactéria (Guarín, 2001). Fungos da ordem Entomophthorales, de difícil produção em meios artificiais, podem ser produzidos sobre o hospedeiro e feita a liberação das múmias no campo, como, por exemplo, para o controle de ácaros fitófagos.

**Produção *in vitro* - sistemas de fermentação.** Dentre os microrganismos com grande potencial para o desenvolvimento de bioprodutos, utilizando-se sistemas de produção em meios de cultura, estão as bactérias e os fungos. Para o controle de insetos destacam-se as bactérias *Bacillus thuringiensis* e *Bacillus sphaericus* e os fungos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium* spp. e *Isaria* spp. No caso das doenças de plantas, a bactéria *Bacillus subtilis* e espécies do fungo *Trichoderma* estão entre os mais utilizados mundialmente.

A produção *in vitro* pode ser feita por meio de fermentações líquidas, sólidas ou semi-sólidas e em sistemas bifásicos, que utilizam as fermentações líquida e sólida em diferentes etapas. Apesar de a fermentação sólida ser utilizada, a fermentação líquida em reatores é o processo mais empregado para a produção massal de bactérias. Nesse caso são utilizadas diversas composições de meio de culturas, desde meios simples a base de caldo de coco e mandioca em sistemas artesanais feitos em alguns países latino-americanos, até resíduos das agroindústrias. Normalmente, os meios líquidos mais complexos são constituídos de farinhas, extratos de proteínas, açúcares e sais, misturados em água, em proporções que assegurem um balanço adequado de carbono e nitrogênio (Moraes *et al.*, 1998; Couch, 2000; Moraes *et al.*, 2001). Muitos dos aspectos referentes à produção de bactérias são segredos industriais que geram patentes das indústrias que os utilizam, sendo poucas as informações disponíveis na literatura especializada.

Para a produção de fungos é mais comum a fermentação sólida ou semi-sólida e o processo bifásico, que envolve as etapas de fermentação líquida e sólida. O desenvolvimento dos processos de produção de fungos no país iniciou-se no final da década de 1960, com a introdução de uma técnica de Trinidad & Tobago, que consiste no uso de cereais ou grãos pré-cozidos como substrato, principalmente arroz. Durante as décadas seguintes, adaptações no sistema tornaram o processo mais prático e a produção mais eficiente (Aquino *et al.*, 1977; Allard, 1987; Alves & Pereira, 1989; Leite *et al.* 2003). Toda a evolução do sistema ocorreu em função do estabelecimento do programa baseado no uso de *Metarhizium anisopliae* para o controle de cigarrinhas em cana-de-açúcar e pastagens. Atualmente, utiliza-se a mesma técnica com pequenas modificações para a produção de outros fungos que controlam insetos e ácaros, como *Beauveria bassiana* e *Lecanicillium*.

Grande parte das técnicas desenvolvidas para a produção de fungos entomopatogênicos no país foi transferida para a produção massal de *Trichoderma*. As espécies mais pesquisadas em relação à produção são: *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma asperellum*, usadas no controle de fungos habitantes de solo causadores de podridões radiculares e murchas; e *Trichoderma stromaticum*, para o controle da vassoura-de-bruxa em cacau. São também usados como substrato grãos de milho, trigo, sorgo, arroz ou milheto, normalmente visando a produção de conídios como ingrediente ativo do produto. Outros fungos antagonistas também se adaptam à fermentação sólida em grãos, como *Acremonium persicinum* para o controle da lixada-coqueiro e *Dicyma pulvinata* (*syn. Hansfordia pulvinata*) para o controle do mal-das-folhas em seringueira.

O sistema bifásico de produção vem sendo mais aplicado nos últimos anos no país para alguns fungos entomopatogênicos, contudo, a etapa de fermentação sólida ainda é feita em cereais ou grãos pré-cozidos. Em alguns casos, apenas a fermentação líquida é utilizada para a produção massal, como ocorre com o fungo *Sporothrix insectorum*, agente controlador do percevejo-de-renda da seringueira (Leite *et al.*, 2003).

Cabe ressaltar, que o processo de produção sólida empregado atualmente no país é simples e pouco automatizado, mas eficiente e de custo compatível com a agricultura nacional. Certamente, técnicas inovadoras, de baixo custo, que possam ser implantadas no sistema atual devem ser pesquisadas para permitir uma evolução maior do setor. O crescimento de uma indústria de bioprodutos deve ser, contudo, cuidadosamente avaliado e projetado, considerando que o aumento de escala está ligado diretamente com problemas relacionados à qualidade final do produto.

## **Desenvolvimento de Formulações Microbianas**

Assim como para a produção de microrganismos, são poucos os detalhes disponíveis na literatura referentes ao desenvolvimento de formulação de bioprodutos. São informações obtidas, normalmente, com pesquisas específicas das próprias indústrias e intimamente ligadas às peculiaridades do sistema de produção massal adotado por cada uma delas. É inquestionável que o

desenvolvimento de uma nova e eficaz formulação microbiana não significa uma simples mistura de inertes a determinado ingrediente ativo. Trata-se de um processo mais complexo e devem ser observados aspectos como o tipo e características do propágulo utilizado como ingrediente ativo, as características do sistema produtivo (condições de fermentação, sistema de secagem e segregação do ingrediente ativo entre outros), as características físicas e químicas dos inertes, a compatibilidade dos componentes da formulação ao microrganismo, a estabilidade do ingrediente ativo no armazenamento, o efeito no desempenho ou atividade do formulado sobre o alvo em relação ao microrganismo não formulado, entre outros. Esses conhecimentos são indispensáveis para o sucesso da formulação no campo.

Boa parte das formulações microbianas registradas e comercializadas no Brasil tem como ingrediente ativo as bactérias, normalmente importadas da Europa, Estados Unidos e Japão. Grandes empresas se interessaram pelas bactérias como produto, em especial as entomopatogênicas. A maior facilidade de produção massal, aspectos referentes ao modo de ação e a estabilidade de formulações bacterianas são alguns pontos que despertaram tal interesse a partir da década de 1950. Atualmente, a maioria dos produtos para controle biológico disponíveis é a base de bactérias (Schnepf *et al.*, 1998; Glare & O'Callaghan, 2000).

No caso de produtos baseados nos fungos, no país, para a maioria deles o ingrediente ativo é a fase conidial, oriundo da reprodução assexuada do microrganismo. Esses podem estar associados a ingredientes inertes ou utilizados isoladamente. Estão disponíveis no mercado nacional formulações granuladas (G), pós-molháveis (WP) e suspensões concentradas em óleo emulsionável (SC) (Almeida *et al.*, 2008). Dependendo da formulação, as aplicações podem ser feitas em pulverização, polvilhamento, no tratamento de sementes, via irrigação ou em mistura com substratos orgânicos na produção de mudas.

Igualmente ao que ocorre com a produção, as formulações microbianas são bastante simples, à exceção dos produtos importados à base de bactérias. Para o baculovirus da lagarta-da-soja, na fase inicial do programa o vírus era aplicado após maceração e filtragem das lagartas mortas coletadas. Somente a partir de 1986, formulações do vírus foram desenvolvidas, sendo atualmente as mais utilizadas pelos sojicultores (Moscardi, 1989; Moscardi, 1998; Moscardi & Sosa-Gómez, 2000). Para fungos, em muitos casos, o inerte da formulação é o próprio substrato de cultivo. Isso implica em menor estabilidade do produto final no armazenamento, que deve ser feito em condições de baixa temperatura e utilizado no campo rapidamente. Nos últimos anos, houve uma evolução de alguns bioprodutos com o surgimento de formulações oleosas, principalmente para *Metarhizium anisopliae* e *Trichoderma harzianum*. Essa formulação propicia maior estabilidade do ingrediente ativo quando armazenado em temperatura ambiente (24-26 °C), facilitando a sua comercialização sem perda de qualidade. Além disso, apresenta vantagens quanto à facilidade de aplicação, proteção no campo da ação da radiação UV, ação do patógeno sobre a praga e proteção do ingrediente ativo em mistura com outros produtos químicos (Alves *et al.*, 2007; Alves *et al.*, 2008d; Lopes *et al.*, 2008). Contudo, o desenvolvimento de formulações microbianas é ainda um campo pouco explorado no país.

## Comercialização de Produtos Microbianos

A comercialização de produtos microbianos pode ser vista sob ângulos diferentes, considerando, principalmente, as características dos produtos e das empresas presentes no mercado nacional. Os produtos importados à base de bactérias, que na sua maioria possuem como ingrediente ativo subespécies de *Bacillus thuringiensis* utilizadas para o controle de lepidópteros, seguem o mesmo modelo comercial dos agrotóxicos. Isso porque são formulações com características semelhantes as dos produtos químicos, ou seja, boa estabilidade no armazenamento e ação rápida sobre o alvo. Outra peculiaridade é que a sua comercialização é feita por empresas bem estruturadas e organizadas no mercado agrícola brasileiro, com disponibilidade de recursos financeiros e humanos. Todos esses aspectos tornam a comercialização desse grupo de bioinseticidas bem conhecida. Entretanto, até o presente, aparentemente não existe um enfoque dessas empresas ao mercado de consumidores de produtos biológicos. Muitos técnicos e agricultores utilizam esse produto microbiano sem mesmo saber de sua origem biológica.

No outro extremo estão os produtos microbianos comercializados por empresas nacionais de pequeno e médio porte, que são os vírus e, principalmente, os fungos entomopatogênicos e antagonistas. Com recursos mais limitados, as empresas buscam resolver as dificuldades de um produto que exige condições de armazenamento e transporte diferenciadas e que a estratégia de uso e o modo de ação sobre o alvo são pouco conhecidos pelo agricultor. Entremeiavam esse mercado alguns investidores oportunistas com pessoal não especializado na área, que surgem com a mesma rapidez que desaparecem, produzindo e comercializando produtos de péssima qualidade e em busca de um retorno financeiro rápido, mesmo que efêmero.

Mesmo depois de algumas décadas do início do programa de controle da cigarrinha *Mahanarva posticata* no Nordeste pelo extinto Programa Nacional de Melhoramento da Cana-de-Açúcar (Planalsucar) (Marques *et al.*, 1981; Marques *et al.*, 2005), a maior demanda para fungos no Brasil ainda está relacionada à cultura da cana-de-açúcar, em um dos maiores programas mundiais de uso de um fungo para o controle de um inseto. Com os problemas ocasionados pela praga no Nordeste e com a expansão atual da área plantada em outros estados, agravando o problema com a cigarrinha *Mahanarva fimbriolata*, o uso de *Metarhizium anisopliae* deve também crescer.

Para o programa de controle das cigarrinhas, a maior parte dos produtos é fornecida por empresas privadas, contudo, muitas usinas de açúcar e destilarias de álcool possuem laboratórios e sua própria produção do fungo *Metarhizium anisopliae* (Alves *et al.*, 2008c). Diferentemente das empresas privadas, a produção do fungo não é o objetivo final das usinas e poucas são auto-suficientes, recorrendo aos produtos no mercado. De modo semelhante, as usinas não investem em sistemas de produção e na formulação do microrganismo, priorizando a máxima redução nos custos na obtenção do produto. A aplicação de *Metarhizium anisopliae* para o controle da cigarrinha *Mahanarva* foi feita, em 2005, em cerca de 200 mil hectares de cana-de-açúcar somente no estado de São Paulo (Almeida & Batista Filho, 2006) e,

provavelmente, em mais de 450 mil ha em todo o país. Em 2007, estima-se que no Brasil esse número tenha atingido 1 milhão de ha (Alves *et al.*, 2008a). Cerca de 75% do volume produzido e utilizado é fornecido pelas indústrias privadas, o restante é obtido nas biofábricas dentro das usinas ou em órgãos públicos estaduais e municipais. A maior parte dos produtos não é formulada, o fungo é comercializado no próprio substrato de cultivo, logo após o seu ciclo reprodutivo e sem processamento.

Além de *Metarhizium anisopliae*, outros fungos que atacam artrópodes estão disponíveis no mercado nacional. Entre esses se destacam os produtos à base de *Beauveria bassiana* para o controle de alguns insetos e ácaros, de *Lecanicillium longisporium* para o controle da cochonilha ortézia e de *Sporothrix insectorum* para o controle do percevejo-de-renda da seringueira. Poucas empresas produzem essas espécies, os produtos no mercado são menos numerosos e seu uso mais restrito, sendo que todos juntos representam uma fatia muito pequena do mercado dos bioinseticidas fúngicos.

Outro grupo de fungos comercializado em grande quantidade no país é o de antagonistas de fitopatógenos habitantes do solo ou que possuam uma fase de seu ciclo no solo. Dentre os antagonistas, *Trichoderma* é certamente o mais utilizado no Brasil, com dezenas de produtos disponíveis no mercado. As doenças visadas são as podridões radiculares e as murchas vasculares causadas por *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Sclerotium*, *Fusarium*, *Verticillium* e *Phytophthora* entre outras.

Os produtos à base de *Trichoderma* podem ser empregados de várias maneiras no campo pelo agricultor, o que depende da cultura e das doenças alvo. Na produção de mudas de hortaliças e ornamentais o antagonista é misturado ao substrato antes do plantio (Melo, 1998; Morandi *et al.*, 2006; Tatagiba *et al.*, 2005; Bettiol *et al.*, 2008). Em canteiros ou covas o produto pode ser incorporado ao solo ou aplicado em pulverização ou rega durante o preparo da área de transplantio (Valdebenito-Sanhueza, 1991). Também pode ser veiculado às sementes ou aplicado via pulverização do sulco de plantio em grandes áreas de cultivo de feijão, soja e milho (Lobo Jr. *et al.*, 2005). Pode ser ainda aplicado via fertirrigação em diversos cultivos ou via irrigação por pivô em área total (Lobo Jr. *et al.*, 2006). Por se tratar de um microrganismo adaptado à rizosfera, seu uso no controle de doenças de parte aérea, especialmente as manchas foliares e ferrugens, é ineficaz, ou faltam estudos que comprovem sua ação. Cabe ressaltar que além da ação de supressão de fitopatógenos de solo, *Trichoderma* tem um importante e significativo efeito no crescimento das plantas e no aumento de produtividade em diversas culturas.

Seja no caso dos bioinseticidas como dos biofungicidas, a maior parte da comercialização desses produtos no país é voltada à agricultura convencional. Esses produtos podem ser associados às diferentes táticas de controle de pragas e doenças, inclusive com os agrotóxicos, em um sistema de manejo. Obviamente, informações sobre a compatibilidade dos produtos químicos com os microrganismos devem ser consideradas e solicitadas pelo agricultor às empresas que produzem o insumo biológico. Embora alguns produtos sejam usados atualmente em grandes culturas anuais, com resultados satisfatórios, os cultivos perenes e semi-perenes e os cultivos intensivos em casas-de-vegetação oferecem melhores condições para o estabelecimento e uso dos microrganismos.

O mercado de hortaliças e flores é também importante, considerando que o problema de resíduos em alimentos de consumo direto ou *in natura* é mais crítico, especialmente para produtos de exportação. A agricultura orgânica é outro campo em crescimento e, certamente, mais dependente de insumos biológicos do que o modelo convencional.

## **Registro de Bioprodutos no Brasil**

Uma das dificuldades para a evolução do mercado de bioprodutos no Brasil é o alto custo para registro. Como boa parte das empresas nacionais é de pequeno porte e com recursos financeiros limitados, os custos do registro restringem o desenvolvimento das indústrias que produzem agentes microbianos de controle. A necessidade inquestionável de as empresas terem seus produtos de acordo com a legislação nacional acaba desviando parte dos recursos que poderiam ser empregados em pesquisas ou em outros setores da indústria, como melhorias no sistema de produção e formulação. As vantagens dos produtos biológicos, sua segurança em relação aos agrotóxicos, já bem discutidas e relatadas na literatura, e a experiência de seu uso em larga escala em diversos países por muitos anos são importantes para a revisão de alguns aspectos da lei. A possível flexibilização ou a interpretação diferenciada das normas de registro podem reduzir a necessidade de altos investimentos por parte da empresa e diminuir a dependência de investimentos externos.

Alguns países latino-americanos, incluindo o Brasil, buscaram por meio do Comitê de Sanidad Vegetal del Cone Sur (Cosave) formas de padronização do registro de bioprodutos. Um comitê de controle biológico, o Grupo de Trabalho Permanente com Controle Biológico (GTB-CB), foi criado para que normas de registro fossem adotadas por esses países (Nardo *et al.*, 1998). Apesar desses esforços, a discussão dos pontos positivos e negativos, da maior ou menor flexibilização no processo de registro de produtos microbianos levou, nos últimos anos, à busca de regras próprias. No Brasil, a norma de registro de produtos microbianos (Instrução Normativa Conjunta nº3, regulada pela Lei 7.802 de 1989 e Decreto 4.074 de 2002) foi aprovada em março de 2006. A criação dessas novas normas teve suporte no documento proposto pela Embrapa Meio Ambiente, que resgatou os esforços anteriores de diferentes instituições nacionais, na forma de uma portaria publicada pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (Ibama - Portaria 131 de 3 de novembro de 1997) (Capalbo *et al.*, 1999).

No entanto, a flexibilização sem critério ou a simples liberação do compromisso de registro, por se considerar que os biopesticidas são produtos naturais, pode trazer consequências negativas ao setor. Acaba-se criando condições para a inundação do mercado por produtos de baixa qualidade e com baixa eficiência em campo. O agricultor desencorajado pela ineficiência do produto, não mais utiliza os produtos biológicos, prejudicando, de uma forma geral, todo o segmento. É necessário que, em discussão com o meio científico e com as empresas privadas, as agências reguladoras encontrem um equilíbrio no sistema de registro

de modo a não retardar o desenvolvimento dos produtos e das empresas, mas que evite a comercialização de produtos de baixa qualidade. Isso reduziria os custos de registro e removeria algumas distorções geradas pelo fato do produto biológico de uso agrícola estar incluído na mesma legislação dos agrotóxicos. Com esse intuito, empresas do setor estão se mobilizando e foi criada, durante a IX Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas, em Campinas, SP, a Associação Brasileira das Empresas de Controle Biológico (ABC BIO), com o objetivo principal de viabilizar as discussões com os órgãos reguladores e com o meio científico.

Certamente, aliada a toda e qualquer interpretação diferenciada das normas, um sistema rígido da fiscalização dos produtos em comercialização é de extrema importância, sistema esse ineficaz ou praticamente inexistente no mercado nacional. Assim, novos produtos são lançados no mercado todo o ano, sem o interesse das empresas em investirem no registro. Esse fato ocorre até hoje no Brasil, onde existem dezenas de formulações disponíveis no mercado, mas poucas registradas e em conformidade com a legislação vigente. De qualquer forma, a tendência é que as forças do próprio mercado regulem o desenvolvimento das empresas privadas. Porém, é indiscutível e vital para a evolução do controle biológico que existam normas claras e a necessidade do registro dos produtos, e que todas as empresas do setor sigam essas normas.

Boa parte dos produtos microbianos registrados no Brasil é à base de bactérias, com destaque para *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* e *aizawai* utilizados no controle de lagartas. Outras bactérias, como *Bacillus thuringiensis* var. *israelenses* e a espécie *Bacillus sphaericus*, usadas para o controle de pernilongos em áreas urbanas, possuem registro como produto biológico domissanitário e seguem legislação diferenciada. Alguns produtos baseados no vírus da poliedrose nuclear usado no controle da lagarta da soja *Anticarsia gemmatalis* também têm registro. No caso de fungos, apenas *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* utilizados para o controle de insetos e ácaros, e *Trichoderma harzianum* para o controle de doenças de plantas estão registrados. Outras espécies de microrganismos e novas formulações ainda estão em fase intermediária ou em fase final do processo. A nova regulamentação é aplicada para produtos formulados com microrganismos de ocorrência natural para o controle de pragas e doenças de plantas. Os produtos que contêm microrganismos modificados geneticamente são ainda analisados por um comitê de biossegurança.

## Considerações Finais

A busca pelo equilíbrio biológico ou a recomposição da população de inimigos naturais em áreas degradadas pelo manejo incorreto das culturas é indispensável para a melhor sustentação do sistema agrícola. Nessa interpretação, os agentes de controle microbiano de pragas e doenças têm um papel importante e o agricultor deve sempre buscar conservar esses organismos no agroecossistema. Os produtos biológicos ou bioreguladores em comercialização podem certamente auxiliar nessa recomposição, pois a agricultura por si só trata-se de um sistema artificial, com a ação reducionista e constante do homem, no que diz respeito à biodiversidade.

Sem dúvida, para o agricultor devem ser claras as vantagens do uso dos produtos biológicos em sua propriedade. Para isso, o benefício que se espera do tratamento biológico deve ser compatível com o custo ou investimento no método. Entende-se por benefício não somente a ação direta do produto sobre o alvo, mas o fato dos produtos biológicos serem biodegradáveis, seguros ao homem, seletivos a outros organismos e não causarem desequilíbrios quando comparados com os agrotóxicos. Normalmente, apesar da eficiência momentânea, não se credita aos agrotóxicos seu “custo ecológico”, ou seja, sua ação indesejada sobre o equilíbrio de um sistema agrícola, sobre o ambiente ou sobre o homem. Sem dúvida, para se obter a relação positiva de custo-benefício, o produto microbiano deve ser compatível economicamente com a condição do agricultor, desde as grandes empresas rurais até o pequeno produtor rural. Contudo, o preço reduzido do produto comercial nem sempre significa boa relação custo-benefício, pois muitos produtos são de procedência duvidosa, de péssima qualidade e comercializados sem critérios técnicos. O agricultor deve sempre buscar informações sobre as empresas que atuam no mercado e seus produtos, preferindo os produtos registrados e de empresas sérias, estabelecidas no mercado e que apresentem convênio ou parceria com instituições de pesquisa reconhecidas.

Deve-se ressaltar, entretanto, que o sucesso do controle biológico de pragas e doenças não depende apenas da disponibilidade de produtos microbianos no mercado. O agricultor não deve entender essa modalidade de controle como uma simples substituição do produto químico convencional pelo biológico. Trata-se de uma mudança mais profunda e que deve ser encarada com uma visão mais ampla, dentro de um contexto de manejo integrado. Desse modo, é importante que o insumo biológico não seja comercializado e utilizado como um simples produto, e sim como um pacote tecnológico ou processo de controle.

## Referências

- Allard, G.B. Prospects for the biocontrol of the sugarcane froghopper with particular reference to Trinidad. *Biocontrol News and Information* 8: 105-115. 1987.
- Almeida, J.E.M. & Batista Filho, A. Controle biológico da cigarrinha da raiz da cana-de-açúcar com o fungo *Metarhizium anisopliae*. São Paulo SP. Instituto Biológico/APTA. 2006. 19 p. (Boletim Técnico 15).
- Almeida, J.E.M.; Batista Filho, A.; Alves, S.B.; Leite, L.G. & Neves, P.M.J.O. In: Alves, S.B. & Lopes, R.B. (Eds.) Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios. Piracicaba. FEALQ. 2008. pp. 257-273.
- Alves, S.B. (Ed.) Controle Microbiano de Insetos. 1ª Ed. São Paulo. Manole. 1986.
- Alves, S.B. (Ed.) Controle Microbiano de Insetos. 2ª Ed. Piracicaba. Fealq. 1998.
- Alves, S.B. & Pereira, R. M. Produção de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. em bandejas. *Ecossistema* 14: 188-192. 1989.
- Alves, S.B.; Lopes, R.B.; Pauli, G.; Mascarin, G.M. & Vieira, S.A. Efeito de diferentes formulações de *Metarhizium anisopliae* na proteção à radiação e eficiência no controle de *Mahanarva fimbriolata*. Anais, X. Simpósio de Controle Biológico, Brasília DF. 2007. CD-ROM, ID-255.
- Alves, S.B.; Lopes, R.B.; Vieira, S.A. & Tamai, M.A. Fungos entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina. In: Alves, S.B. & Lopes, R.B. (Eds.) Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios. Piracicaba. FEALQ. 2008a. pp. 69-110.
- Alves, S.B.; Lopes, R.B.; Pereira, R.M. & Tamai, M.A. O controle microbiano na América Latina. In: Alves, S.B. & Lopes, R.B. (Eds.) Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios. Piracicaba. FEALQ. 2008b. pp. 21-48.

- Alves, S.B.; Leite, L.G.; Batista Filho, A.; Almeida, J.E.M. & Marques, E.J. Produção massal de fungos entomopatogênicos na América Latina. In: Alves, S.B. & Lopes, R.B. (Eds.) Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios. Piracicaba. FEALQ. 2008c. pp. 215-234.
- Alves, S.B.; Lopes, R.B.; Pauli, G.; Mascarin, G.M. & Delalibera Jr., I. Eficiência de formulações de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* no controle de lagartas de *Diatraea saccharalis* em laboratório e campo. Anais, XXII. Congresso Brasileiro de Entomologia, Uberlândia-MG. 2008d. CD-ROM.
- Aquino, M.L.N.; Vital, A.F.; Cavalcanti, V.L.B. & Nascimento, M.G. Cultura de *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin em sacos de polipropileno. Recife. Comissão Executiva de Defesa Fitossanitária da Lavoura Canavieira de Pernambuco. 1977. 11 p. (Boletim Técnico da CODECAP, n°5).
- Bettiol, W.; Ghini, R.; Morandi, M. A. B.; Stadnik, M.J.; Krauss, U.; Stefanova, M. & Prado, A.M.C. Controle biológico de doenças de plantas na América Latina. In: Alves, S.B. & Lopes, R.B. (Eds.) Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios. Piracicaba. FEALQ. 2008. pp. 303-327.
- Capalbo, D. M. F.; De Nardo, E.A.B.; Moraes, G. J.; Oliveira, M.C.B. & Castro, V.L.S.S. Avaliação de Agentes Microbianos de Controle de Pragas para Registro como Bioinseticidas: uma proposta para órgãos federais registrantes - Informações sobre o produto e análises de resíduo. Jaguariúna. Embrapa Meio Ambiente. 1999.
- 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. Amsterdam. Kluwer Academic Publishers. 2000. pp. 297-316.
- De Nardo, E.A.B.; Moraes, G.J. & Sá, L.A.N. Regulamentação do uso de agentes microbianos de controle. In: Alves, S.B. (Ed.) Controle microbiano de insetos. Piracicaba. FEALQ. 1998. pp. 1119-1142.
- Dias, P.R.P. & Rezende, J.A.M. Premunização da abóbora híbrida Tetsukabuto para o controle do mosaico causado pelo *Papaya ringspot virus* - type W. Summa Phytopathologica 26: 390-398. 2000.
- Dolinski, C. Developing a research and extension program for control of the guava weevil in Brazil using entomopathogenic nematodes. Abstracts, XXXV. Annual Meeting of the Society of Nematologists, Hawaii, Lihue, 38. 2006. p. 270.
- Dolinski, C.M.; Del Valle, E.E. & Stuart, R. Virulence of entomopathogenic nematodes to larvae of the guava weevil *Conotrachelus psidii* (Coleoptera: Curculionidae) in laboratory and greenhouse experiments. Biological Control 38: 422-427. 2006.
- Glare, T.R. & O'Callaghan, M. *Bacillus thuringiensis*: Biology, Ecology and Safety. Chichester. John Wiley & Sons. 2000.
- 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: 15-23. 2001.
- Leite, L.G.; Batista Filho, A.; Almeida, J.E.M. & Alves, S.B. Produção de Fungos Entomopatogênicos. Ribeirão Preto. A.S. Pinto. 2003.
- Lobo Jr., M.; Pimenta, G. & Ballarotti, A. Controle de *Rhizoctonia solani* e *Fusarium solani* em campo com *Trichoderma harzianum*. Fitopatologia Brasileira 30S: 91. 2005. (Resumo).
- Lobo Jr., M.; Pimenta, G. & Gontijo, G.H. Controle biológico de *Sclerotinia sclerotiorum* por *Trichoderma harzianum* em condições de campo. Fitopatologia Brasileira 31S: 362. 2006. (Resumo).
- Lopes, R.B.; Alves, S.B.; Pauli, G.; Mascarin, G.M.; Oliveira, D.G.P. & Vieira, S.A. Efeito da formulação em óleo emulsionável de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* na proteção a fungicidas químicos. Anais, XXII. Congresso Brasileiro de Entomologia, Uberlândia MG. 2008. CD-ROM.
- Marques, E.J.; Villas Boas, A.M. & Pereira, C.E.F. Orientações técnicas para a produção do fungo entomógeno *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. em laboratórios setoriais. Boletim Técnico Planalsucar 3: 5-23. 1981.
- Marques, E.J.; Lima, R.O.R.; Vilas Boas, A.M. & Pereira, C.E.F. Controle biológico da cigarrinha da folha *Mahanarva posticata* (Stal) (Hemiptera: Cercopidae) em cana-de-açúcar nos Estados de Pernambuco, Paraíba e Rio Grande do Norte. In: Mendonça, A.F. (Ed.) Cigarrinhas da Cana-de-açúcar: controle biológico. Maceió. Insecta. 2005. pp. 295-301.

- Melo, I.S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: Melo, I.S. & Azevedo, J.L. (Eds.) Controle Biológico. Jaguariúna. Embrapa. 1998. pp. 17-67.
- Mijares, A.S. & Bellini, A.C. Producción masiva de *Romanomermis iyengari* y su aplicación en criaderos de anofelinos en Boa Vista (Roraima), Brasil. Revista Panamericana de Salud Publica 7: 155-161. 2000.
- Moraes, I.O.; Capalbo, D.M.F. & Arruda, R.O. Produção de bactérias entomopatogênicas. In: Alves, S.B. (Ed.) Controle microbiano de insetos. Piracicaba. Fealq. 1998. pp. 815-843.
- Moraes, I.O.; Capalbo, D.M.F. & Moraes, R.O.M. Produção de bioinseticidas. In: Lima et al. (Eds.) Biotecnologia Industrial. Vol. 3. São Paulo. Edgar Blücher. 2001. pp. 249-278.
- Morandi, M.A.B.; Bettiol, W. & Ghini, R. Situação do controle biológico de doenças de plantas no Brasil. In: Venzon, M.; Paula Jr., T.J. & Pallini, A. (Eds.) Controle Alternativo de Pragas e Doenças. Viçosa. Epamig. 2006. pp. 247-267.
- Moscardi, F. Use of viruses for pest control in Brazil: the case of the nuclear polyhedrosis virus of the soybean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 84: 51-56. 1989
- Moscardi, F. Utilização de vírus entomopatogênicos em campo. In: Alves, S.B. (Ed.) Controle Microbiano de Insetos. Piracicaba. Fealq. 1998. pp. 509-539.
- Moscardi, F. Assessment of the application of Baculoviruses for control of Lepidoptera. Annual Review of Entomology 44: 257-289. 1999.
- Moscardi, F. & Santos, B. Produção comercial do nucleopoliedrovírus de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lep.: Noctuidae) em laboratório. Anais, IX. Simpósio de Controle Biológico. Recife PE. 2005. p. 42.
- Moscardi, F. & Sosa-Gómez, D.R. Microbial control of insect pests of soybeans. In: Lacey, L. & Kaya, H. (Eds.) Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology: Application and evaluation of pathogens for control of insects and other invertebrate pests. Dordrecht. Kluwer Academic Publishers. 2000. pp. 447-466.
- Moscardi, F.; Leite, L.G. & Zamataro, C.E. Production of nuclear polyhedrosis virus of *Anticarsia gemmatalis* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae): Effect of virus dosage, host density and age. Annals of the Entomological Society 26: 121-132. 1997.
- Moscardi, F.; Morales, L. & Santos, B. The successful use of AgMNPV for the control of the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis*, in soybean in Brazil. Proceedings, 35<sup>a</sup>. Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology, Foz de Iguaçu. 2002. pp. 86-91.
- Muller, G.W. & Costa, A.S. Premunização de plantas cítricas. In: Bettiol, W. (Ed.) Controle Biológico de Doenças de Plantas. Jaguariúna. Embrapa-CNPMA. 1991. pp. 285-293.
- Rabelo, L.C. Seleção de estirpe fraca do *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) e controle dos mosaicos comum (*Papaya ringspot virus*) e amarelo (ZYMV) por dupla premunização em abobrinha-de-moita. Dissertação de Mestrado. Piracicaba SP. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. 2002.
- Rezende, J.A.M. & Müller, G.W. Mecanismos de proteção entre vírus e controle de viroses de vegetais por premunização. Revisão Anual de Patologia de Plantas 3:185-226. 1995.
- Rezende, J.A.M. & Pacheco, D.A. Control of papaya ringspot virus-type W in zucchini squash by cross protection in Brazil. Plant Disease 82: 171-175. 1998.
- Rezende, J.A.M.; Pacheco, D.A. & Iemma, A.F. Efeitos da premunização da abóbora 'Menina Brasileira' com estirpes fracas do vírus do mosaico do mamoeiro-estirpe melancia. Pesquisa Agropecuária Brasileira 34: 1481-1489. 1999.
- Schnepf, E.; Crickmore, N.; Van Rie, J.; Lereclus, D.; Baum, J.; Feitelson, J.; Zeigler, D. R. & Dean, D. H. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. Microbiology and Molecular Biology Reviews 62: 775-806. 1998.
- Sosa-Gómez, D.R.; Moscardi, F.; Santos B.; Alves, L.F.A. & Alves, S.B. Produção e uso de vírus para o controle de pragas na América Latina. In: Alves, S.B. & Lopes, R.B. (Eds.) Controle Microbiano de Pragas na América Latina: avanços e desafios. Piracicaba. FEALQ. 2008. pp. 49-66.
- Tatagiba, J.S.; Oliveira, K.V. & Aguilar, M.A. Avaliação da eficiência do Trichodermil PM no controle da podridão de *Phytophthora* na cultura do mamão. Fitopatologia Brasileira. 30S: 79. 2005. (Resumo).
- Valdebenito-Sanhueza, R.M. Possibilidades do controle biológico de *Phytophthora* em macieira. In: Bettiol, W. (Ed.) Controle Biológico de Doenças de Plantas. Jaguariúna. Embrapa-CNPMA. 1991. pp. 303-305.