

Brasil cria novo inseticida não tóxico

Foi nos Estados Unidos, em meados da década de 1950, que surgiu o interesse em desenvolver, comercialmente, inseticidas à base de microorganismos que atacam insetos. Para isso concorreram a constatação de que esses produtos, além de atingir ampla gama de insetos sem prejudicar a flora ou outros animais, podiam ser produzidos em larga escala.

No Brasil, o desenvolvimento de defensivos agrícolas nacionais é um dos objetivos do Plano Básico de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (PBDCT), que integra o Plano Nacional de Desenvolvimento (PND). Uma maior integração entre agricultura e indústria na busca de soluções autóctones permitiria o aumento da produtividade no setor agropecuário, com a redução das perdas ocasionadas pelas pragas (que hoje chegam a 40%). Por outro lado, a regionalização da produção desses insumos, ao evitar gastos em transporte, possibilitaria um custo final menor, além de propiciar maior absorção de mão-de-obra local.

Em 1972, pesquisadores da área de bioengenharia da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas (FEA/Unicamp) iniciaram trabalhos com a finalidade de estabelecer processos de produção de inseticida bacteriano por fermentação de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), uma bactéria mesófila e aeróbia (isto é, que vive sob temperaturas moderadas e em ambientes oxigenados).

Após uma fase de crescimento vegetativo, o *Bt* se reproduz (esporula), produzindo esporos tóxicos a certas borboletas e mariposas (lepidópteros); forma-se ainda um composto protéico, tóxico a outras borboletas e mariposas: o conjunto das duas toxinas constitui o complexo esporo/cristal. Por fermentação, o *Bt* produz essas substâncias tóxicas (alfa e delta-endotoxinas), que, isoladamente ou formando o complexo esporo/cristal, são letais para cerca de 150 espécies de lepidópteros que, na fase jovem, sob forma de lagartas, alimentam-se de plantas, atacando produtos agrícolas tanto *in natura* como armazenados. Além destas, o *Bt* produz a beta-exotoxina, uma substância termoestável que é tóxica para os insetos dípteros (moscas e mosquitos).

Até a década de 1950, o desenvolvimento de inseticidas de *Bt* permaneceu em segundo plano: os inseticidas químicos podiam ser produzidos a custos menores e tinham um espectro de atuação mais amplo.

A partir de 1970, no entanto, a resistência desenvolvida por insetos à maioria desses produtos, com os distúrbios decorrentes no balanço de suas populações, e o impacto destes sobre o meio ambiente favoreceram a pesquisa de inseticidas de *Bt*.

A produção comercial de microorganismos e de seus produtos requer a seleção de uma linhagem específica bem adaptada ao processo, que cresça sob condições econômicas de fermentação.

Para fermentarem, as células microbianas requerem água, carbono (para biossíntese e liberação de energia), nitrogênio, minerais e fatores de crescimento. As quantidades de cada componente e sua forma de apresentação variam segundo o processo utilizado. Os tanques fermentadores devem ser assépticos, preferencialmente de aço inoxidável. Como fontes de carbono, *Bt* pode utilizar amido (para produzir amilase extracelular), melão, farelos de grãos e subprodutos industriais (água-de-coco, soro de queijo etc). O nitrogênio pode ser suprido por sais de amônio, aminoácidos, peptídeos, farelos de cereais, água de maceração de milho, farinhas, extratos de levedura, hidrolisados de caseína e soro de queijo. Sais inorgânicos, como cálcio e magnésio, essenciais para a formação de esporos, podem ser acrescentados ao meio (o uso de subprodutos industriais torna isso desnecessário, por já terem eles, em sua composição, quantidades suficientes de minerais). A própria água, não destilada, pode também ser fonte de minerais.

Na Unicamp, utilizamos água de maceração de milho e melão de cana como únicos componentes do meio de cultura. Os resultados são excelentes: nove a dez bilhões de esporos por mililitro em 24 horas de fermentação em laboratório.

As condições de crescimento são estabelecidas em função do máximo rendimento em esporo/cristal tóxico, e não somente do crescimento celular. O meio de cultura é inicialmente neutro, mas durante o crescimento, em consequência da formação de ácidos orgânicos pela degradação dos carboidratos, a acidez cai a um valor próximo de cinco. Não se controla a acidez do meio, já que essa queda é propícia à formação do esporo e do cristal tóxico.

Sendo *Bt* um microorganismo dependente de oxigênio, o suprimento desse elemento é fator importante. Para evitar contaminação, o ar é injetado através de filtros e a transferência de oxigênio para o meio é auxiliada pela agitação. Além disso, como *Bt* é mesófilo, a temperatura é mantida em $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

A padronização do *Bt* pode ser feita determinando-se sua potência por meio do padrão E_{61} (*Etalon 61*, fornecido pelo "Laboratoire de Lutte Biologique" do Instituto Pasteur, da França — equivale a mil unidades internacionais por miligrama de produto), ou através da designação de unidade internacional determinada através de bioensaios, como se faz nos Estados Unidos e em outros países.



Lagarta-da-couve (*Ascia monuste*) se alimentando.

fotos cedidas pelos autores

Dada a natureza microbiana do produto, a padronização é uma questão bastante controversa. Os inseticidas químicos são padronizados com base na porcentagem do princípio ativo, mas o que define a potência tóxica de inseticidas bacterianos é o bioensaio. Este consiste em determinar-se — através de experiências feitas com um inseto, chamado inseto-teste — a dose letal média do padrão (DL_{50} do padrão) dividida pela DL_{50} do produto em teste; a multiplicação desse resultado por mil fornece a potência do produto em teste.

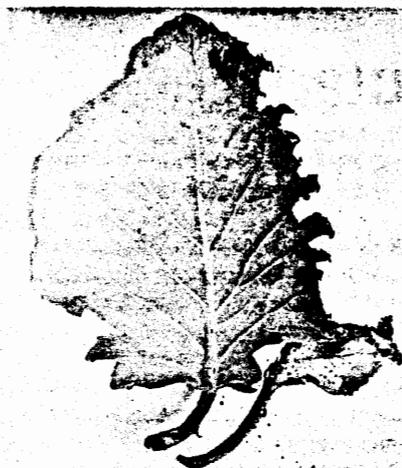
No início do desenvolvimento do produto comercial, a padronização era feita pela contagem de esporos (método impreciso, mas ainda utilizado por muitos pesquisadores). O método conclusivo envolve o bioensaio, que permite a mensuração em unidades arbitrárias, porém relacionadas a um padrão internacional que utilize um inseto-teste adequado. Como o inseto-teste utilizado na determinação do padrão pode não existir em certos países, é recomendável utilizar mais de um na validação dos resultados, bem como considerar, na determinação da DL_{50} , o padrão e o produto obtido.

Quanto ao uso, o inseticida bacteriano (fração endotóxica) pode ser empregado — e é mesmo recomendado pela Food and Drug Administration (FDA), dos Estados Unidos — para pragas de maçã, alcachofra, feijão, brócoli, couve, couve-flor, alho, algodão, alface, melão, batata, espinafre, tomate e soja.

Em 1966, foi proibido, nos Estados Unidos, o uso de inseticidas químicos em tabaco. Por recomendação oficial, *Bt* passou a ser usado contra *Protoparce sexta* e *Heliothis virescens* — insetos que atacam essa cultura —, com excelentes resultados.

Na FEA/Unicamp, verificamos a toxicidade do produto obtido contra a praga de grãos armazenados e de produtos hortícolas em geral. A fração exotóxica é aplicável a moscas e mosquitos. Foi aplicada com bons resultados, em nível de laboratório, contra moscas de frutas, moscas azuladas (pragas de pecuária) e a mosca doméstica.

A produção mundial de inseticidas à base de *Bt* é estimada em torno de 3.500 toneladas/ano, sendo os Estados Unidos o maior produtor, com cerca de mil toneladas/ano, seguidos da França e da Inglaterra, que, juntos, não chegam a produzir mais de 500 toneladas/ano. A produção da União Soviética, sobre a qual não se dispõe de dados exatos, é estimada em torno de 1.500 toneladas/ano.



Lagartas-da-couve (*Ascia monuste*) em folhas de couve tratadas (à esquerda) e não tratadas com *Bt* (à direita), após sete dias.

As perspectivas de uso de *Bt* parecem favoráveis, prevendo-se que a produção mundial crescerá entre 10 e 20% até 1990. Hoje, no Brasil, a demanda é da ordem de 200 toneladas/ano.

São muitas as vantagens da utilização dos inseticidas de *Bt*. Entre elas, podemos citar:

1) Tanto a delta-endotoxina como os esporos incorporados aos produtos não apresentam toxicidade para os mamíferos, predadores e insetos benéficos e, além disso, não atacam plantas. Com estas características, os produtos à base de *Bt* estão isentos de quaisquer restrições, podendo inclusive ser aplicados imediatamente antes da colheita (o que lhes confere grande interesse na proteção de culturas).

2) Até o momento, foi publicado um único artigo sobre resistência de insetos aos produtos de *Bt*, e mesmo este tem sua validade questionada por alguns cientistas.

3) O potencial de *Bt* não foi ainda explorado em toda a sua extensão. Permanece aberta a possibilidade de descoberta ou produção de novas linhagens com maior atividade ou diferente espectro de atuação (como a variedade *israelensis*).

Entre as desvantagens dos preparados à base de *Bt*, cabe mencionar:

1) O reduzido espectro de atuação que, na proteção de plantas, se limita a borboletas e mariposas. Como em certos casos deseja-se controlar simultaneamente insetos de outras ordens, o uso de *Bt* fica limitado, uma vez que só os produtos químicos têm tal atividade. Não há, porém, incompatibilidade entre o uso de *Bt* e o de inseticidas químicos, o que, num controle integrado, é extremamente vantajoso.

2) A produção de novas linhagens de *Bt* permanece desprotegida, não podendo suas

patentes ser depositadas, o que desencoraja o desenvolvimento de pesquisas pela indústria.

3) O uso de *Bt* não é simples: é necessário conhecer o tempo correto de aplicação, enquanto os produtos químicos são geralmente aplicados de forma profilática. Embora a delta-endotoxina tenha uma ação rápida, os insetos morrem lentamente, e os agricultores estão acostumados aos efeitos imediatos dos inseticidas químicos.

4) *Bt* deve ser ingerido pelos insetos-alvo. A atividade de alimentação dos insetos depende tanto de condições do ambiente, como temperatura, luz e umidade, quanto da qualidade do alimento. Se não há toxina suficiente incorporada na ração, a larva se recupera das lesões provocadas pela toxina no trato digestivo e volta a se alimentar após dois ou três dias.

Até o momento, os altos custos dos inseticidas de *Bt* importados têm dificultado o trabalho de difusão do produto. A possibilidade da produção nacional, com equipamento desenvolvido no país e utilização de subprodutos, abre uma perspectiva mais favorável.

As patentes de produtos à base de endo e exotoxinas de *Bt* estão sendo oferecidas a indústrias de fermentação, especialmente aquelas com linhas assépticas de produção. Há duas patentes do processo produtivo: uma delas valeu a uma de nós (Iracema de Oliveira Moraes) o Prêmio Governador do Estado de São Paulo em 1985.

Iracema de Oliveira Moraes
Faculdade de Engenharia de Alimentos,
Universidade Estadual de Campinas

Deise M. F. Capalbo
Centro Nacional de Pesquisa de Defesa da
Agricultura,
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária