

RESSALVA

**Atendendo solicitação da autora,
o texto completo deste
documento será disponibilizado
somente a partir de 04/04/2027.**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"JULIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CÂMPUS DE ARARAQUARA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE BIOMATERIAIS E

BIOPROCESSOS

MESTRADO PROFISSIONAL

GABRYELY ELOISA HENARES OSTRUFKA

**ESCALONAMENTO DE CULTIVO SUBMERSO UTILIZANDO
MICRORGANISMO DO GÊNERO *STREPTOMYCES* PARA USO NA
AGRICULTURA**

ARARAQUARA - SP

2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"JULIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CÂMPUS DE ARARAQUARA

GABRYELY ELOISA HENARES OSTRUFKA

ESCALONAMENTO DE CULTIVO SUBMERSO UTILIZANDO
MICRORGANISMO DO GÊNERO *STREPTOMYCES* PARA USO NA
AGRICULTURA.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos (Mestrado Profissional), Área de Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos.

ORIENTADOR: Prof. Dr. ÁLVARO DE BAPTISTA NETO

ARARAQUARA - SP

2025

085e

Ostrufka, Gabryely Eloisa Henares.

Escalonamento de cultivo submerso utilizando microrganismo do gênero *Streptomyces* para uso na agricultura / Gabryely Eloisa Henares Ostrufka. – Araraquara, 2025.
79 f. : il.

Dissertação (Mestrado Profissional) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho" Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós-graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos. Área de Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos.

Orientador: Álvaro de Baptista Neto.

1. *Streptomyces* spp. 2. Escalonamento. 3. Cultivo submerso aeróbio. 4. kLa. 5. Vtip. I. Baptista Neto, Álvaro de, orient. II. Título.

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP - Campus de Araraquara
Kazumi Tomoyose - CRB 8/10904

CAPES: 33004030170P0
Esta ficha não pode ser modificada

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ESCALONAMENTO DE CULTIVO SUBMERSO UTILIZANDO
MICRORGANISMO DO GÊNERO *STREPTOMYCES* PARA USO NA
AGRICULTURA

AUTORA: GABRYELY ELOISA HENARES OSTRUFKA

ORIENTADOR: ALVARO DE BAPTISTA NETO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em null, área: Biomateriais,
Bioprocessos, Bioprodutos pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. ALVARO DE BAPTISTA NETO (Participação Virtual)
Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia / Faculdade de Ciências Farmacêuticas do
Campus de Araraquara da Unesp

Dr. IRON AMORELI DE FIGUEIREDO RIBEIRO (Participação Virtual)
Agrivalle

Prof. Dr. GUILHERME PEIXOTO (Participação Virtual)
Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia / Faculdade de Ciências Farmacêuticas do
Campus de Araraquara da Unesp

Araraquara, 04 de abril de 2025

RESUMO

Este projeto teve como objetivo principal o escalonamento de um bioprocessamento submerso aeróbio utilizando um microrganismo do gênero *Streptomyces spp.*, partindo de um biorreator de 4 litros para uma escala de 100 litros. Foram realizadas as caracterizações dos biorreatores de 4 e 100 litros quanto à geometria e o coeficiente de transferência de oxigênio (k_{LA}). Além disso, obteve-se também os valores da velocidade na ponta do impelidor (V_{tip}) nas duas escalas. Com base nesses dados, foi definida uma estratégia de cultivo otimizada para o aumento de escala, visando manter as condições ideais para o crescimento do microrganismo. O cultivo em escala de 100 litros atingiu uma concentração celular abaixo do esperado, porém observou-se um aumento significativo de 3,5 vezes na produção de quitinase, uma enzima de interesse industrial. Esse incremento na produção de quitinase e a redução de concentração celular foi associado a condições de estresse geradas pela demanda de oxigênio dissolvido no cultivo pelo microrganismo não suprida pelas condições de cultivo definidas em escala piloto, o que pode ter induzido uma resposta metabólica diferenciada no microrganismo. Apesar da variação na concentração celular, os perfis de pH ao longo do cultivo apresentaram grande similaridade entre as duas escalas. Os resultados destacaram desafios associados à manutenção das condições ideais de cultivo em diferentes escalas e os impactos dessas variações na produção de biomassa e metabólitos, sendo necessário estudos posteriores para melhor entendimento e definição dos parâmetros operacionais do cultivo em escala de 100 litros.

Palavras-chave: *Streptomyces spp.*; escalonamento; cultivo submerso aeróbio; k_{LA} ; V_{tip} .

ABSTRACT

This project aimed to scale up an aerobic submerged bioprocess using a microorganism of the genus *Streptomyces spp.*, transitioning from a 4-liter bioreactor to a 100-liter scale. Characterizations of the 4-liter and 100-liter bioreactors were conducted, focusing on geometry and the oxygen transfer coefficient (kLa). Additionally, the tip speed of the impeller (V_{tip}) was determined for both scales. Based on these data, an optimized cultivation strategy was defined for the scale-up, aiming to maintain ideal conditions for microbial growth. O cultivo em escala de 100 litros atingiu uma concentração celular abaixo do esperado, however, a significant 3.5-fold increase in chitinase production, an enzyme of industrial interest, was observed. This increase in chitinase production and the reduction in cell concentration was associated with stress conditions caused by the dissolved oxygen demand generated during the cultivation, which was not fully met under the defined pilot-scale conditions. This may have induced a distinct metabolic response in the microorganism. Despite the variation in cell concentration, the pH profiles during cultivation showed high similarity between the two scales. The results highlighted challenges related to maintaining ideal cultivation conditions at different scales and the impacts of these variations on biomass and metabolite production. Further studies are necessary to better understand and define the operational parameters for cultivation at the 100-liter scale.

Keywords: *Streptomyces spp.*; scale up; submerged culture; kLa ; V_{tip} .

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Número de registros e distribuição dos tipos de produtos biológicos para a agricultura até outubro de 2023	17
Figura 2 - Resistências associadas a dissolução e ao consumo do oxigênio	23
Figura 3 - Exemplificação dos biorreatores utilizados no projeto	28
Figura 4 - Representação das dimensões para caracterização geométrica dos biorreatores	29
Figura 5 - Visualização de metodologia de inoculação em duas etapas	35
Figura 6 - Visualização de metodologia de quantificação de unidades formadoras de colônias	38
Figura 7 - Triplicata de cultivos submersos em biorreator de 4 litros, representados pelo consumo de oxigênio dissolvido ao longo do tempo	40
Figura 8 - Triplicata de cultivos submersos em biorreator de 4 litros, representados pelo perfil de pH ao longo do tempo	40
Figura 9 - Valores de k_{LA} em função do aumento da agitação	43
Figura 10 - Comparação entre os valores de k_{LA} em função do aumento da agitação considerando os tratamentos com e sem o atraso da resposta do sensor	43
Figura 11 - Valores de k_{LA} em função do aumento da agitação	44
Figura 12 - Comparação entre os valores de k_{LA} em função do aumento da agitação considerando os tratamentos com e sem o atraso da resposta do sensor	45
Figura 13 - Comparação dos valores de k_{LA} para as duas estratégias abordadas sem considerar o atraso na resposta do eletrodo	46
Figura 14 - Comparação dos valores de k_{LA} para as duas estratégias abordadas considerando o atraso na resposta do eletrodo	46
Figura 15 - Gráfico de concentração de células viáveis (C_{cv}) em função do tempo	47
Figura 16 - Gráfico de $\ln$ em função do tempo de cultivo na fase exponencial de crescimento de células viáveis (C_{cv})	48
Figura 17 - Gráfico da concentração celular de biomassa (C_x) em função do tempo	49

Figura 18 - Gráfico de $\ln(C_x)$ em função do tempo de cultivo na fase exponencial de crescimento celular.	50
Figura 19 - Gráfico de concentração de células viáveis (C_{cv}) em função do tempo	51
Figura 20 - Gráfico da concentração celular de biomassa (C_x) em função do tempo	52
Figura 21 - Linearização da fase log de concentração celular de biomassa (C_x) pelo tempo .	53
Figura 22 - Primeiro cultivo submerso em biorreator de 100 litros, representados pelo consumo de oxigênio dissolvido ao longo do tempo.	58
Figura 23 - Cultivos submersos em biorreator de 100 litros, representados pelo consumo de oxigênio dissolvido ao longo do tempo.	59
Figura 24 - Cultivos submersos em biorreator de 100 litros, representados pelo perfil de pH ao longo do tempo	59
Figura 25 - Concentração de células viáveis (C_{cv}) dos cultivos em escala piloto ao longo do tempo.	61
Figura 26 - Concentração de biomassa (C_x) dos cultivos em escala piloto ao longo do tempo.	61
Figura 27 - Quantificação de quitinase para os cultivos conduzidos em 3 escalas, Erlenmeyer, biorreator de 4 litros e biorreator piloto.....	63
Figura 28 - Inóculo do cultivo em escala piloto.	67
Figura 29 - Visualização de impelidores nas escalas 10, 100, 1000 e 5000 L respectivamente.	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características geométricas dos Biorreatores utilizados	29
Tabela 2 - Condições dos ensaios para determinação de k_{La} em biorreator de 4 litros... ..	31
Tabela 3 - Estratégia 1 para determinação de k_{La} em biorreator de 100 litros	32
Tabela 4 - Estratégia 2 para determinação de k_{La} em biorreator de 100 litros	32
Tabela 5 - Condições de cultivo em Biorreator de 4 litros	34
Tabela 6 - Condições prévias de cultivo em Biorreator de 100 litros	37
Tabela 7 - Concentração de células viáveis (UFC/mL) das triplicatas de cultivos submersos em biorreator de 4 litros ao longo do tempo.....	41
Tabela 8 - Valores de k_{La} definidos para escala de bancada	42
Tabela 9 - Valores de k_{La} obtidos em escala piloto (100 litros) com base na Estratégia 1 (0,50 vvm).....	42
Tabela 10 - Valores de k_{La} obtidos em escala piloto (100 litros) com base na Estratégia 2 (0,50 vvm)	44
Tabela 11 - Condições de cultivo para a etapa de inoculo em escala piloto	53
Tabela 12 - Novas condições de cultivo propostas para a etapa de inoculo em escala piloto..	55
Tabela 13 - Resultado dos experimentos de novas condições de cultivo para inoculo em escala piloto	55
Tabela 14 - Novas condições de cultivo para a etapa de inoculo em escala piloto	55
Tabela 15 – Estratégias de escalonamento	57

LISTA DE ABREVIATURAS

°C	Grau celsius
Ccv	Concentração de células viáveis
Cx	Concentração celular de biomassa
kLa	Coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio
MAPA	Ministério da Agricultura e Pecuária
mL	Mililitros
ϕ ar	Vazão volumétrica de ar
Rpm	Rotações por minuto
spp.	Espécies
UFC	Unidades formadoras de colônia
uL	Microlitros
Vtip	Velocidade na extremidade do impelidor
vvm	Vazão volumétrica de oxigênio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVO	15
3 REVISÃO DA LITERATURA	16
3.1 A evolução dos produtos Biológicos.....	16
3.2 Actinobactérias e o gênero <i>Streptomyces</i>	18
3.3 Bioprocessos aplicados a <i>Streptomyces</i>	19
3.3.1 Condições de cultivo submersos aplicados a <i>Streptomyces</i>	21
3.3.2 Agitação, Aeração em cultivos aeróbios	22
3.4 Ampliação de escala em bioprocessos e as metodologias aplicadas	25
4 MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.1 Escalonamento de processo	28
4.1.1 Caracterização geométrica dos biorreatores.....	28
4.1.2 Determinação dos valores do coeficiente volumétrico de transferência de O_2 (kLa)	30
4.1.3 Velocidade da extremidade do impelidor (V_{tip})	33
4.2 Microrganismo.....	33
4.3 Condições de cultivo	33
4.3.1 Cultivo em escala de bancada.....	33
4.3.2 Cultivo em escala piloto	35
4.3.2.1 Preparo do inóculo.....	35
4.3.2.2 Condições de cultivo em escala piloto	36
4.4 Metodologias analíticas	37
4.4.1 Determinação da concentração de células viáveis (Ccv)	38
4.4.2 Determinação da concentração celular de biomassa (Cx)	38

4.4.3 Quantificação de quitinase.....	39
5 RESULTADOS	40
5.1 Cultivo em escala de bancada.....	40
5.2 Determinação dos valores do coeficiente volumétrico de transferência de O_2 (k_{La})..	42
5.3 Cultivo em escala piloto	47
5.3.1 Ativação da linhagem e preparo do inóculo.....	47
5.3.2 Etapa de ativação.....	47
5.3.3 Avaliação da etapa de preparo do inóculo	50
5.3.4 Alteração da metodologia de inoculação	54
5.3.5 Escalonamento do cultivo em biorreator de 100 litros.....	56
6 DISCUSSÃO	65
6.1 Obtenção de coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_{La}) para escala piloto	65
6.2 Inóculo para escala piloto	65
6.3 Escalonamento do cultivo em biorreator de 100 litros.....	68
6.4 Intercorrências na execução dos cultivos em escala piloto	70
7 CONCLUSÕES.....	72
REFERÊNCIAS	74

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos o termo Agricultura sustentável tem ganhado espaço no mercado, principalmente devido ao grande aumento populacional da última década, trazendo preocupações frente à segurança alimentar da população. Um dos objetivos de desenvolvimento sustentável da ONU traz referência ao tema de agricultura sustentável, na qual frisa a importância do aumento de produtividade agrícola, garantindo sistemas sustentáveis de produção alimentar. Nesse contexto, estratégias que utilizem recursos naturais vem sendo cada vez mais exploradas visando atender as demandas do presente sem causar danos futuros ao meio ambiente (Brasil, 2019; Mitter, 2021).

Estudos apontam que o crescimento populacional pode levar à escassez de recursos naturais não renováveis, evidenciando, cada vez mais, a necessidade de impulsionar os sistemas agrícolas sustentáveis capazes de satisfazer as necessidades alimentares da população mundial. Estima-se que será necessário dobrar a produção atual em breve, o que configura um grande desafio para a agricultura (Brasil, 2019). Além disso, os últimos anos foram marcados por grandes volumes de defensivos agrícolas aplicados, causando uma série de malefícios ambientais, degradando solos e limitando crescimento e produção vegetal (Kumawat, 2022; Gomes, 2023).

O Brasil é um grande consumidor de produtos químicos para agricultura, importando cerca de 70% dos produtos utilizados. Esses produtos químicos, vulgarmente conhecidos como “agrotóxicos”, são altamente eficazes contra diversas pragas e doenças nas principais culturas do país. Contudo, além de eliminá-las, seu uso prolongado pode prejudicar espécies essenciais para o equilíbrio da biodiversidade, contaminar recursos hídricos e degradar o solo, trazendo danos, muitas vezes, irreparáveis para o ambiente e população. Esses dados colocam a agricultura brasileira distante da sustentabilidade, trazendo um dilema: o agricultor precisa controlar as pragas que ameaçam suas plantações, mas o uso excessivo de agrotóxicos pode causar danos futuros. Nesse contexto, os produtos biológicos têm ganhado cada vez mais destaque e importância.

Nesse cenário, de acordo com dados da Crop life (2020), os produtos biológicos podem ser classificados, resumidamente, como organismos vivos que controlam população de pragas e doenças. Segundo a Associação Brasileira das Empresas de Controle Biológico, é previsto um crescimento anual de 20% no uso de biodefensivos para o controle de pragas e doenças. De acordo com dados levantados pela Crop Life Brasil, o número de produtos

biológicos de controle disponíveis no mercado dobrou, movimentando mais de R\$675 milhões em 2019, um crescimento de 15% em relação a 2018 (Brasil, 2020; Mapa, 2020).

Há vários fatores por trás do crescimento da utilização desses produtos, o primeiro deles é voltado a sua origem, e aqui se ressalta que, por ser de origem viva é obtido por meio de uma fonte ilimitada. Esses microrganismos são encontrados, em sua grande maioria, em solos de origens diversas, onde uma pequena amostra é capaz de viabilizar uma imensidão de produtos obtidos sem que isso afete negativamente a região em que foi coletado (Brasil, 2020; Brasil, 2023; Gomes, 2023).

É importante destacar dois outros aspectos, sendo o primeiro, no campo dos benefícios. Neste, o uso excessivo de produtos químicos pode aumentar a resistência das pragas, agravando problemas fitossanitários. Por outro lado, a utilização de produtos biológicos pode mitigar esses problemas, graças aos múltiplos modos de ação dos microrganismos envolvidos. Isso promove o equilíbrio biológico, aumentando a eficiência das culturas e contribuindo para uma agricultura verdadeiramente sustentável (Gomes, 2024).

O segundo ponto, agora focado no aspecto econômico, é que os produtos biológicos, em sua maioria, são fabricados no Brasil. Essa produção nacional facilita o planejamento financeiro dos agricultores, pois os preços são mais estáveis em comparação com os fertilizantes importados. Além disso, muitas moléculas agroquímicas amplamente utilizadas já são proibidas em diversos países, enquanto os produtos biológicos, que enfrentam menos restrições regulatórias frente aos riscos à saúde humana e do meio ambiente, surgem como uma alternativa viável e oferecem oportunidades no mercado internacional (Gomes, 2024).

Outro fator relevante é a crescente atenção dos agricultores a esses produtos, devido a sua eficiência e à produtividade alcançada nas culturas nas quais são aplicados. Esses efeitos benéficos, cada vez maiores, estão diretamente ligados ao investimento em pesquisa e desenvolvimento por várias empresas e organizações do setor agrícola. À medida que os benefícios são evidenciados no campo, mais agricultores adotam essas práticas, atraindo um número maior de empresas para o mercado. Isso, por sua vez, aumenta significativamente a competitividade, gerando mais investimentos e impulsionando o desenvolvimento de novas tecnologias no setor de produtos biológicos.

Atualmente, a maioria dos agentes biológicos registrados no Brasil é composto por fungos e bactérias, sendo essas predominantemente do gênero *Bacillus* spp., o qual vem sendo intensamente comercializado por diversas empresas, em decorrência do grande conhecimento

acerca dos efeitos benéficos e domínio dos processos produtivos em larga escala desses microrganismos.

A busca por inovação e diferenciação das empresas no mercado de produtos biológicos vem crescendo e, com isso, a gama de microrganismos explorada vem aumentando. Surge então a necessidade de pesquisa e desenvolvimento de processos com outros microrganismos, tais como bactérias filamentosas, como actinobactérias, por exemplo, que apesar de conhecido o seu potencial biotecnológico para esse mercado, poucos estudos exploram a produção desses microrganismos para fins comerciais (Oliveira *et al.*, 2014).

Quando se aborda novos tipos de microrganismos aplicados à agricultura, como as actinobactérias, uma análise de patentes revela que há um número significativamente maior de estudos focados na performance desses agentes em escala laboratorial do que em escala industrial. Esse fato pode estar atrelado a um dos grandes desafios das indústrias: a transferência de tecnologia dos resultados laboratoriais para a produção em larga escala, também chamado de escalonamento (Thorpe; Ridgman, 2016).

A falta de trabalhos relatados nesse estágio de desenvolvimento pode ser atribuída, principalmente, a dois fatores inter-relacionados: indisponibilidade de recursos estruturais por parte da academia e deficiência de profissionais da indústria aptos a evidenciar, de maneira estruturada, os desafios encontrados nessa etapa do desenvolvimento de um novo produto, principalmente pelos segredos industriais envolvidos.

Na grande maioria das vezes, o tempo de desenvolvimento de um produto industrial difere do tempo ideal de uma pesquisa aprofundada, ademais, um processo de escalonamento é complexo, extenso e oneroso e a utilização de métodos baseado na “tentativa e no erro” pode deixar esse processo ainda mais dispendioso. Com isso, os critérios de escalonamento são imprescindíveis para que um bom resultado seja alcançado com assertividade, respeitando os métodos científicos em conjunto com as necessidades da indústria (Paula & Ribeiro, 2006).

Diante das informações supracitadas, o presente trabalho visou o estudo do aumento de escala de um processo já desenvolvido em escala laboratorial, utilizando uma linhagem de actinomicetos do gênero *Streptomyces* spp., visando determinar a melhor estratégia de escalonamento que propicie a transferência de tecnologia adequada à escala proposta.

7. CONCLUSÕES

Este trabalho teve como objetivo desenvolver estratégias de cultivo submerso em escala piloto utilizando *Streptomyces* spp., com base em correlações geométricas e na determinação do coeficiente de transferência de oxigênio (kLa) por meio da metodologia *gassing out*. Os resultados demonstraram que os valores de kLa obtidos em bancada são alcançáveis em escala piloto, permitindo sua utilização como critério de escalonamento com os equipamentos empregados.

Durante a preparação do inóculo, observou-se a necessidade de estudos mais aprofundados sobre o banco de esporos, incluindo viabilidade ao longo do tempo e influência na formação de pellets. A morfologia e produtividade do microrganismo mostraram-se altamente dependentes das condições de cultivo, como meio, temperatura, agitação e pH. A metodologia inicial para definição do tempo de ativação não foi eficaz, resultando na adoção de períodos mais longos, o que reduziu a fase lag em 24 horas, embora ainda permanecesse alta (cerca de 10 horas).

A estratégia baseada na manutenção de Vtip revelou limitações na transferência de oxigênio em escala piloto, resultando em baixos níveis de oxigênio dissolvido e, conseqüentemente, redução na concentração de células viáveis. Por outro lado, observou-se um aumento de 3,5 vezes na produção de quitinase, possivelmente devido ao estresse metabólico induzido pelas condições de cultivo em 100 litros. Isso sugere que ambientes adversos podem direcionar o metabolismo microbiano para a produção de metabólitos de interesse industrial.

O escalonamento também evidenciou a importância de aspectos operacionais, como sistemas de CIP/SIP e fornecimento de utilidades (água gelada, vapor, ar comprimido), essenciais para a condução eficiente de experimentos em escala piloto. Destaca-se a necessidade de dimensionamento adequado dessas utilidades e da validação de protocolos de limpeza específicos ao microrganismo.

Apesar dos desafios, o projeto permitiu estabelecer um processo mínimo viável em escala piloto, com metodologia de inóculo, parâmetros operacionais e protocolos de limpeza mais robustos. Embora a concentração celular tenha sido inferior à esperada, a produção de quitinase foi significativamente superior. Esses resultados reforçam a importância de equilibrar crescimento e produção de metabólitos em escalonamentos.

Por fim, o estudo oferece uma base sólida para futuros trabalhos de otimização e contribui significativamente para o avanço técnico e científico na área de cultivos microbianos em escala piloto e industrial.

REFERÊNCIAS

AGFEED (Brasil). **Pesquisa aponta: há 85 empresas de biológicos no ponto para fusões e aquisições.** 2023. Disponível em: <https://agfeed.com.br/caminhos-do-agro/pesquisa-aponta-ha-85-empresas-de-biologicos-no-ponto-para-fusoes-e-aquisicoes/#>. Acesso em: 25 abr. 2024. (AGFEED, 2023)

BARKA, Essaid Ait *et al.* Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. **Microbiology And Molecular Biology Reviews**, [S.L.], v. 80, n. 1, p. 1-43, mar. 2016. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/mmbbr.00019-15>.

BRASIL. NAÇÕES UNIDAS BRASIL. **Os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável no Brasil: fome zero e agricultura sustentável.** Fome zero e agricultura sustentável. 2019. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/sdgs/2>. Acesso em: 22 mar. 2024.

CROPLIFE BRASIL **Conheça os protagonistas dos produtos biológicos disponíveis no Brasil.** 2020. Disponível em: <https://croplifebrasil.org/conceitos/conheca-os-protagonistas-dos-produtosbiologicos-disponiveis-no-brasil/>. Acesso em: 25 maio 2023.

BRASIL. WWF-BRASIL. **Brasil é um dos principais receptores das substâncias proibidas na União Europeia Por WWF-Brasil.** 2023. Disponível em: <https://www.wwf.org.br/?86981/Uso-de-agrotoxicos-no-Brasil-dobrou-entre-2010-e-2021>. Acesso em: 26 mar. 2024.

CROPLIFE BRASIL. **Produtos biológicos registrados.** 2023. Disponível em: <https://croplifebrasil.org/publicacoes/produtos-biologicos-registrados/> Acesso em: 26 abr. 2024.

CROPLIFE BRASIL. **Agentes biológicos e interações da natureza levadas para a agricultura moderna.** 2023. Disponível em: <https://croplifebrasil.org/noticias/agentes-biologicos-interacoes-da-natureza-levadas-para-a-agricultura-moderna/>. Acesso em: 18 abr. 2024.

DORAN, Pauline M. **Bioprocess Engineering Principles** / Pauline M. Doran. London; San Diego :Academic Press, 1995.

EMBRAPA (Brasil). **Controle biológico: ciência a serviço da sustentabilidade**. 2014. Disponível em: <https://www.embrapa.br/tema-controle-biologico/sobre-o-tema#:~:text=A%20premissa%20b%C3%A1sica%20do%20controle,como%20fungos%2C%20v%C3%ADrus%20e%20bact%C3%A9rias>. Acesso em: 21 abr. 2024. (EMBRAPA, 2014).

EMBRAPA (Brasil). **A evolução do mercado de biológicos no Brasil e no mundo: com mercado aquecido, indústria de produtos biológicos deve viver novos ciclos de inovação**. 2019. Disponível em: <https://www.noticiasagricolas.com.br/noticias/soja/240342-com-mercado-aquecido-industria-de-produtos-biologicos-deve-viver-novos-ciclos-de-inovacao.html?fbclid=IwAR24-3dPyw3Ho84ULkI9vedhFMg-p3XTHo8RDA7Gi3HFia6QRM4JRhw2x8U#.XZIwC1VKiK9>. Acesso em: 25 abr. 2024. (EMBRAPA, 2019)

EMBRAPA (Brasil). **Como o Brasil se tornou o maior produtor e consumidor de produtos de biocontrole**. 2023. Elaborado por Wagner Bettiol e Flávio H. V. de Medeiros. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/79156418/artigo-como-o-brasil-se-tornou-o-maior-produtor-e-consumidor-de-produtos-de-biocontrole>. Acesso em: 21 abr. 2024. (EMBRAPA, 2023)

FARDA, B. *et al.* **Actinomycetes from Caves: an overview of their diversity, biotechnological properties, and insights for their use in soil environments**. *Microorganisms*, [S.L.], v. 10, n. 2, p. 453, 16 fev. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms10020453>.

GARCIA-OCHOA, F.; GÓMEZ, E. **Bioreactor scale-up and oxygen transfer rate in microbial process: An overview**. *Biotechnology Advances*, v. 27, p. 153-176, 2009.

FREIRE, E. S. *et al.* **Controle Biológico de doenças de plantas: Conceitos, desafios e perspectivas**. 2019. Disponível em: <https://plantiodireto.com.br/artigos/132>. Acesso em: 19 jun. 2024.

GOMES, J. P. A. *et al.* Uso de microrganismos eficientes como alternativa para agricultura sustentável: um referencial teórico. *Agroecologia: Métodos e Técnicas para uma Agricultura Sustentável*, v. 5, p. 340-355, 2021. Disponível em:

<https://downloads.editoracientifica.com.br/articles/210604968.pdf>. Acesso em: 18 dez. 2023.

GOMES, J. **A revolução dos biológicos e os benefícios à agricultura, às pessoas e ao planeta:** em um tempo em que falamos muito em produção sustentável, os bioinsumos são indispensáveis. 2023. Disponível em: <https://globo.rural.globo.com/opiniao/vozes-do-agro/noticia/2023/10/a-revolucao-dos-biologicos-e-os-beneficios-a-agricultura-as-pessoas-e-ao-planeta.ghtml>. Acesso em: 29 mar. 2024.

GOPALAKRISHNAN, S. *et al.* (2020) **Streptomyces**. In: **BENEFICIAL Microbes in Agro-Ecology**. Telangana, India: Elsevier Inc., 2020. p. 55-71.

GIBBS, P. *et al.* (2000) **Growth of Filamentous Fungi in Submerged Culture: Problems and Possible Solutions, Critical Reviews in Biotechnology**, 20:1, 17-48, DOI: 10.1080/07388550091144177

ISLAM, R. *et al.* **Scale-up of Escherichia coli growth and recombinant protein expression conditions from microwell to laboratory and pilot scale based on matched kLa**. *Biotechnology And Bioengineering*, [S.L.], v. 99, n. 5, p. 1128-1139, 29 out. 2007. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/bit.21697>.

ISLAM, Md. *et al.* (2009) **Isolation, Identification and Optimal Culture Conditions of Streptomyces albidoflavus C247 Producing Antifungal Agents against Rhizoctonia solani AG2-2**, *Mycobiology*, 37:2, 114-120

JONES, S. e *et al.* **‘Exploring’ the regulation of Streptomyces growth and development**. *Current Opinion In Microbiology*, [S.L.], v. 42, p. 25-30, abr. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2017.09.009>.

KOLLING, D. **Ampliação de escala do processo de produção de enzima lignocelulolíticas por fungo filamentoso em fermentação submersa**. 2017. 99 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2017.

KUMAWAT, K. C. *et al.* **Rhizospheric microbiome: bio-based emerging strategies for sustainable agriculture development and future perspectives.** Microbiological Research, [S.L.], v. 254, n. 1, p. 126901, jan. 2022. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2021.126901>

LIANG, J. *et al.* **“Effects of cultivation conditions on the production of natamycin with *Streptomyces gilvosporeus* LK-196.”** *Enzyme and microbial technology* vol. 42,2 (2008): 145-50. doi:10.1016/j.enzmictec.2007.08.012

MAPA. **Mapa registra recorde de 95 defensivos de controle biológico em 2020.**

Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/Mapa-registrarecorde-de-95-defensivos-biologicos-em-2020>. Acesso em: 26 maio 2023.

MANTECA, A. *et al.* **‘Mycelium Differentiation and Development of Streptomyces in Liquid Nonsporulating Cultures: Programmed Cell Death, Differentiation, and Lysis Condition Secondary Metabolite Production’.** Growing and Handling of Bacterial Cultures, IntechOpen, 4 Dec. 2019. Crossref, doi:10.5772/intechopen.84182.

MITTER, E. K. *et al.* **Rethinking Crop Nutrition in Times of Modern Microbiology: innovative biofertilizer technologies.** Frontiers In Sustainable Food Systems, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 1-23, 19 fev. 2021. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fsufs.2021.606815>

OLIVEIRA, A. P. G. *et al.* **Importância das Actinobactérias em processos ecológicos, industriais e econômicos.** Enciclopédia Biosfera, Alegre, v. 10, n. 18, p. 3952-3967, jul. 2014. Trimestral.

PAULA, I. C. de; RIBEIRO, J. L. D. **Problemas de scaling up no desenvolvimento de produtos farmacêuticos em empresas brasileiras.** *Produto & Produção*, [S.L.], v. 5, n. 3, p. 17-32, 8 fev. 2006. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

<http://dx.doi.org/10.22456/1983-8026.1433>

RENGE, V. C. *et al.* **ENZYME SYNTHESIS BY FERMENTATION METHOD : A REVIEW.** Scientific Reviewa & Chemical Communications, India, v. 4, n. 2, p. 585-590, 19 out. 2012.

ROSA, J. C. *et al.* **“Influence of dissolved oxygen and shear conditions on clavulanic acid production by *Streptomyces clavuligerus*.”** Bioprocess and biosystems engineering vol. 27,2 (2005): 99-104. doi:10.1007/s00449-004-0386-9

SCHMIDELL, W. *et al.* **Biotecnologia industrial, v.2:** engenharia bioquímica.. v.2.. SÃO PAULO: Blucher, 2001., 540. p.

SILVA, A. L. S. **Otimização do processo fermentativo para a produção do antibiótico nigericina por *Streptomyces*.** 2014. 86 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências, Química, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014. (SILVA, 2014)

THORPE, M.; RIDGMAN, T. Identifying and Sharing the Knowledge Required for Scaling Up Innovative Technologies in the Process Industry. **International Journal Of Innovation And Technology Management**, [S.L.], v. 13, n. 06, p. 17500061-175000622, 14 nov. 2016. World Scientific Pub Co Pte Ltd. <http://dx.doi.org/10.1142/s0219877017500067>.

VAN DISSEL, D. *et al.* **“Morphogenesis of *Streptomyces* in submerged cultures.”** *Advances in applied microbiology* vol. 89 (2014): 1-45. doi:10.1016/B978-0-12-800259-9.00001-9