

V32 - EFEITO DO pH SOBRE O CRESCIMENTO CELULAR, A ESPORULAÇÃO E A SÍNTESE DE ENDOTOXINAS DE *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* CULTIVADO EM BIORREATOR DE BANCADA

Clecia Pierozan (PIBIC/CNPq), Mauricio Moura da Silveira, Eloane Malvessi - Deptº Engenharia Química/UCS - cpieroz@ucs.br

A bactéria Gram-positiva e anaeróbia facultativa *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti) difere-se das demais espécies do gênero por formar um cristal protéico durante a fase de esporulação, com atividade tóxica contra dípteros de importância para a saúde pública. Parâmetros físicos como temperatura, pH, oxigênio dissolvido são de grande importância no desenvolvimento bacteriano. Neste trabalho, a influência do pH sobre o crescimento celular, a esporulação e a produção de endotoxinas de Bti foi avaliada. Os ensaios foram conduzidos em biorreator de bancada, contendo 3,5 litros de meio de cultivo, em meio com glicose como fonte de carbono, extrato de levedura como fonte de nitrogênio orgânico e solução de sais, a 30°C e nível de O₂ dissolvido de, no mínimo, 30% da saturação. Foram realizados ensaios sem controle de pH (SC), controlado entre 5,5 e 7,0 e outros três ensaios com o pH fixado em 5,5, 6,2 ou 7,0. A concentração de açúcares redutores foi determinada por DNS e a biomassa celular a partir de parâmetros respiratórios. A esporulação foi determinada por contagem em placas de Petri e as endotoxinas foram identificadas em gel de eletroforese (SDS-PAGE). Nos ensaios fermentativos SC, pH 5,5-7,0 e com valores fixados em 5,5, 6,2 e 7,0, a produção de biomassa foi de 7,0, 9,5, 12,3, 13,0 e 12,0g/L, respectivamente. Valores residuais de substrato de 4,0 e 1,5g/L foram observados somente nos cultivos SC e pH fixo em 5,5, respectivamente. Na contagem do número mais provável de esporos, valores na ordem de 10¹² esporos/mL foram obtidos em todas as condições, em cerca de 28h, exceto no cultivo SC, com esporulação inferior, 8.10¹¹ esporos/mL. Maior relação entre esporos e células viáveis foi observada no cultivo de pH 5,5 (5.10⁻¹ esp/CV), seguido pelo cultivo de pH 7,0, de 5.10⁻² esp/CV. Quanto à produção de endotoxinas, foi evidenciada a expressão das proteínas de 26, 70 e 128 kDa, nas condições de pH fixados em 5,5, 6,2 e 7,0, sendo que as que apresentam atividade tóxica contra dípteros são as proteínas de 26 e 70 Kda. Os dados indicam que, apesar de Bti crescer em uma ampla faixa de pH, há a necessidade do controle deste parâmetro, uma vez que o crescimento celular foi negativamente afetado nos cultivos em que o pH não foi controlado ou em que houve controle em valores mais baixos (pH 5,5). Quanto à produção de endotoxinas e à esporulação, valores de pH mais próximos da neutralidade levaram a melhores resultados.

Palavras-chave: *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, pH, endotoxinas

Apoio: UCS, CNPq