

## ESTUDO DA INFLUÊNCIA DE DIFERENTES SUBSTRATOS ENERGÉTICOS SOBRE O CRESCIMENTO E A ESPORULAÇÃO DE *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*

Clécia Pierozan (PIBIC/CNPq), Mauricio Moura da Silveira (orientador), Rafaela Vedovelli, Cíntia Panarotto, Eloane Malvessi, Ana Paula Longaray Delamare, Sergio Echeverrigaray - Deptº Engenharia Química/Centro de Ciências Exatas e Tecnologia/UCS - [cpieroza@ucs.br](mailto:cpieroza@ucs.br)

*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti) é utilizada na produção de biolarvicidas devido à sua capacidade de sintetizar um cristal protéico, tóxico contra dípteros de importância para a saúde pública. Neste trabalho, foi avaliado o cultivo de Bti IPS-82 em meios formulados com fontes de carbono economicamente aplicáveis. Glicose (G), lactose (L) e sacarose (S), nas concentrações de 5, 10 e 20g/L, adicionadas a meios contendo extrato de levedura e sais, foram comparadas a um meio sem fonte de carbono (SC). Os ensaios foram conduzidos, inicialmente, em agitador de bancada (130rpm/30°C/48h) e, após, em biorreator (30°C, pH 5,5-7,0, 30% de O<sub>2</sub>). Carboidratos foram determinados por DNS, com hidrólise ácida no caso da sacarose, e a biomassa por absorvância (até 6h de cultivo), gravimetria ao final do cultivo e, em biorreator, a partir de parâmetros respiratórios. A esporulação foi determinada por contagem em placas de Petri. Prototoxinas foram identificadas em gel de eletroforese (SDS-PAGE). Em agitador, foram medidas, em 24h, as seguintes concentrações de biomassa (g/L): 2,9 (SC), 4,6 (G5), 7,5 (G10), 10,8 (G20), 1,7 (L5), 3,3 (L10), 4,6 (L20), 4,4 (S5), 4,6 (S10) e 6,7 (S20). A utilização de substrato foi total em meios com glicose e altos valores residuais foram observados com sacarose e lactose. Esporulação da ordem de 10<sup>10</sup> esporos/mL foram alcançadas, em 36h, em todas condições. A prototoxina de 70kDa foi observada em todas as condições, exceto em lactose. Em biorreator foram testados G20, G10, L10, S10 e SC. Com relação à biomassa celular, foram atingidos 8,3 e 12g/L, em G10 e G20, respectivamente, 4,5g/L, em L10 e S10, e 2,4g/L na condição SC. O perfil de consumo de açúcares, até 12h, foi semelhante ao observado em ensaios em agitador. Valores de máxima velocidade específica de crescimento ( $\mu_{\text{máx}}$ ) atingidos foram 0,31, 0,42 e 0,46h<sup>-1</sup>, para SC, G10 e G20, e 0,46 e 0,37h<sup>-1</sup>, em L10 e S10, respectivamente. Contagens de esporos na ordem de 10<sup>12</sup> foram alcançadas em todas as condições, exceto para SC (10<sup>11</sup>esporos/mL). Proteínas de 26, 70 e 130kDa foram identificadas em G10 e G20, entre 22-28h de processo. Em S10, verificou-se a presença das proteínas de 26 e 70 kDa em 48h. Os dados indicam que a utilização de glicose é mais adequada por ser um substrato facilmente metabolizável por Bti e ter proporcionado a expressão das prototoxinas de interesse. Sacarose mostrou potencial para utilização como fonte de carbono alternativa à glicose.

Palavras-chave: *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, fontes de carbono, toxinas

Apoio: UCS, CNPq