

Ciências Biológicas

Efeito do tempo de crescimento de *Bacillus thuringiensis* na produção de proteínas vegetativas

Giovanna Silveira Marques - 7º módulo de ciências biológicas, LCBM/UFLA, bolsista iniciação científica Klabin via FUNDECC

Mariana Macedo Souza - Pós - doutoranda no Programa de Pós-Graduação em Entomologia, UFLA

Ricardo Felipe Resende - Técnico de laboratório LCBM/DQI, UFLA

Renata Barbosa de Oliveira Tenório - 7º módulo de ciências biológicas, LCBM/UFLA, iniciação científica. Bolsista CNPq

Ronald Zanetti Bonetti Filho - Coorientador DEN, UFLA

Luciano Vilela Paiva - Orientador LCBM/DQI, UFLA - Orientador(a)

Resumo

A agricultura enfrenta diversos desafios no manejo de pragas. Desta forma, os biopesticidas à base de *Bacillus thuringiensis* (Bt) têm se mostrado efetivos e sustentáveis. As proteínas produzidas durante a esporulação (Cry) e em sua fase vegetativa (Vip) são tóxicas para diversos insetos-praga. As Vips podem ser encontradas no meio extracelular e em diferentes quantidades dependendo do seu tempo de crescimento. Desse modo, o objetivo principal do estudo foi quantificar as proteínas Vip expressas por *B. thuringiensis* em diferentes tempos de crescimento. O experimento foi conduzido no Laboratório Central de Biologia Molecular (LCBM), em que três cepas de Bt (T06, T16 e T24) foram cultivadas em meio Luria-Bertani (LB) sob agitação por períodos de 12, 24 e 48 horas. Posteriormente, foi realizada a quantificação de proteínas pelo método Bradford, utilizando o corante Comassie Blue G250. Inicialmente foi estabelecido a curva-padrão a partir da leitura da absorbância de sete concentrações distintas de BSA com auxílio do equipamento Gene Quant (função Protein 595 Assay). A partir da curva ($y = 1,32x + 0,1241$), foi possível estimar as quantidades de proteínas presentes nas amostras. Os dados foram submetidos à análise estatística Anova One Way com correção post-hoc de Games-Howell, seguido de comparação de média pelo teste Fisher LSD, pelo software Statistica. Após a quantificação, foi preparado um gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) para separar proteínas por diferentes pesos moleculares (kDa). As amostras foram submetidas à eletroforese a 80 V por 3 horas. O peso das proteínas foi determinado pelo Marcador de Proteínas de Alta Faixa TrueColor S2600. Dentre os resultados da quantificação, observou-se que não houve diferença estatística nos diferentes tempos de crescimento de Bt T06 (variando entre 0,27 a 0,45 mg/ml) e T16 (variando entre 0,18 a 0,31 mg/ml). Por outro lado, na cepa T24, houve diferença na proteína produzida em 24 e 48 horas (0,19 e 0,38 mg/ml, respectivamente). Somente no tempo de 48 horas, foi observado diferença entre as cepas, em que a T16 produziu menos proteínas em comparação às outras. As amostras mostraram uma variação notável nos perfis proteicos, com as principais frações de proteínas apresentando pesos moleculares na faixa de 20 a 140 kDa, o que pode resultar em toxicidade para diversos insetos. No entanto, bioensaios são necessários para validar a efetividade dessas proteínas no controle das pragas.

Palavras-Chave: Quantificação de proteína, VIP, Biopesticida.

Instituição de Fomento: Klabin

Link do pitch: https://youtu.be/M2TBZ71__xl