

## CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE DIFERENTES ISOLADOS DE *Bacillus thuringiensis* EFICIENTES NO CONTROLE DA LAGARTA *Spodoptera frugiperda*

Lopes, A.R.S\*.; Mourão, A.H.C.; Tuelher, E.S.; Valicente, F.H.

Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

\*alicinhadesa@hotmail.com

*Bacillus thuringiensis* (*Bt*) é uma bactéria gram positiva que durante o processo de esporulação produz um cristal protéico que é tóxico para insetos. A lagarta *Spodoptera frugiperda* é a principal praga do milho no Brasil. O objetivo deste trabalho foi analisar as proteínas e os genes *cry* de quatro novos isolados de *Bt* que se mostraram eficazes no controle da lagarta-do-cartucho, causando 100% de mortalidade em laboratório. As cepas SGS-F, SGS-K e SGS-N foram isoladas de palha de café no município de São Gonçalo do Sapucaí, MG e a cepa Btx isolada de esterco líquido de suíno (chorume), originário da cidade de Patrocínio, MG. Para caracterização das proteínas, as bactérias foram crescidas por três dias em placa de Petri em meio sólido LB (Luria Bertani) acrescido de sais. Estas cepas foram transferidas para o meio líquido LB mais sais a 30°C e 200rpm durante 4 dias. As amostras foram centrifugadas 3 vezes a 10.000rpm/10min. O pellet foi ressuscitado em 5ml de tampão (bicarbonato de sódio e B-mercaptoetanol) e foi realizada a digestão com tripsina, incubando as amostras a 37°C/2horas sob agitação constante. Correram-se as amostras em gel de poliacrilamida a 10% a 100 volts. Para a caracterização dos genes *cry* foi usada a PCR. Em ambas metodologias foram utilizadas as cepas 344 (do Banco de Microorganismos da Embrapa Milho e Sorgo – *Bacillus thuringiensis tolworthi*) e HD 125 como testemunhas. Nos isolados Btx e SGS-N foram observadas pró-toxinas de peso molecular de 116, 66, 45 e 29 KDa e toxina com 60 KDa, e no isolado SGS-K identificou-se pró-toxina e toxina de 60 KDa. Na PCR foram encontrados os genes *cry1B*, *cry1E* e *cry1F* nos isolados SGS-K, SGS-N e Btx e no isolado SGS-F foram encontrados apenas *cry1E* e *cry1F*. Os novos isolados apresentaram genes que são encontrados nas cepas 344 e HD 125 que codificam proteínas tóxicas para a lagarta *S. frugiperda*.

Apoio financeiro: FAPEMIG/CNPq