



Identificação da produção de β -exotoxina em cepas de *Bacillus thuringiensis*

Daniele H. Pinheiro¹; Jéssika L. O. Baum²; Camila S. F. Souza³; Donald Manigat³; Rosane B. Silva¹; André H. C. Mourão³; Priscilla T. Nascimento³; Fabrício O. Fernandes³; Arthur A. G. Torres³; Fernando H. Valicente⁴

¹ Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras, MG, Brasil. ² Centro Universitário de Sete Lagoas, R. Pedra Grande, 2268, 35701-970, Sete Lagoas, MG, Brasil. ³ Universidade Federal de São João del-Rei, Rodovia MG 424 Km 47 35701-970, Sete Lagoas, MG, Brasil. ⁴ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Milho e Sorgo, Rod MG 424 Km 45, Zona Rural, Sete Lagoa, MG, Brasil.

Bacillus thuringiensis é uma bactéria entomopatogênica capaz de sintetizar β -exotoxina, uma toxina termoestável secretada no meio de cultura, com atividade inespecífica, portanto, a Organização Mundial de Saúde recomenda que os biopesticidas sejam formulados a partir de cepas de *B. thuringiensis* que não sintetizam esta toxina. A síntese de altos níveis desta toxina foi correlacionada com a presença dos genes *cry1B* e *vip2*. Assim, este trabalho teve como objetivo caracterizar cepas de *B. thuringiensis* quanto à produção de β -exotoxina e à presença dos genes *cry1B* e *vip2*. Para isto, uma alíquota de 10 μ L de cada uma das 30 cepas analisadas foi inoculada em 10 mL de meio LB acrescido dos sais $MgSO_4$, $FeSO_4$, $ZnSO_4$ e $MnSO_4$, e incubado a 28 °C e 200 rpm por 16 h. Este pré-inóculo foi vertido em 50 mL de meio LB com sais, de modo que a concentração inicial da cultura fosse de 10^6 células mL^{-1} , incubados a 28 °C/200 rpm durante 144 h. Após o cultivo, a cultura foi centrifugada a 10000 rpm/10 min e o pellet foi descartado. Para os bioensaios, foi aplicado 165 μ L do sobrenadante autoclavado a 121 °C/20 min sobre um pedaço de dieta com $1cm^3$, e oferecido a 10 lagartas de *Spodoptera frugiperda* de 2 dias de idade/repetição. A avaliação do número de lagartas mortas e o peso foi realizado 8 dias após a inoculação. Para caracterização molecular, o DNA das cepas de *B. thuringiensis* foi extraído e então utilizado para realizar a PCR empregando *primers* específicos para os genes *cry1B* e *vip2*. Foi verificado que 6 cepas produziram β -exotoxina representando 13,3% do número total das cepas avaliadas e que o gene *cry1B* foi detectado em 10 cepas, correspondendo portanto a 31,25%; dentre estas, apenas três cepas também produziram β -exotoxina. E foram 17 cepas (52%) que amplificaram o gene *vip2* durante a PCR, incluindo duas cepas que sintetizaram β -exotoxina, demonstrando portanto não haver uma correlação direta entre a produção da β -exotoxina e a presença dos genes *cry1B* e *vip2*.

Palavras-chave: Controle biológico, Bactéria entomopatogênica, Thuringiensina

Apoio: Funarbe, Fapemig, CNPq