

3312
MA-049

ANÁLISE DO SOBRENADANTE DE CULTURA *Bacillus thuringiensis* CONTENDO GENES VIP E SUA EFICIÊNCIA RELATIVA NO CONTROLE DE LAGARTAS DE *Spodoptera frugiperda*.

Cíntia Guimarães dos Santos, Leandro L. Loguercio*, Marliton R. Barreto, Fernando H. Valicente e Edilson Paiva.
CNPMS/EMBRAPA, C.P. 151, CEP 35701-970, Sete Lagoas, MG.

Proteínas inseticidas, do tipo "vip", são secretadas no sobrenadante de culturas de *Bacillus thuringiensis* (B.t.) em fase de crescimento vegetativo. Caracterizou-se por PCR 59 cepas de B.t. da coleção disponível no Laboratório de Controle Biológico/NBA/ Embrapa Milho e Sorgo, para verificar especificamente a presença do gene Vip3A. Também foram testados os efeitos de mortalidade das proteínas inseticidas do sobrenadante de algumas destas cepas em lagartas de *Spodoptera frugiperda*. As cepas foram crescidas em meio líquido e centrifugadas para obtenção das células bacterianas. O DNA de cada cepa foi obtido através de lise alcalina ("miniprep") e os fragmentos foram amplificados utilizando pares de primers específicos para o gene Vip3A. Identificou-se o número e o peso molecular das bandas amplificadas em gel de acrilamida 5%. Para estimar o conteúdo de vips com atividade biológica em um sobrenadante, as culturas de bactérias foram cultivadas em meio líquido por 16 horas à 30°C e centrifugadas; o sobrenadante foi então filtrado para minimizar a presença de células bacterianas. Como a fração vip é termosensível, estimou-se a atividade biológica desta fração pela aplicação de alíquotas de sobrenadante aquecida diferenciadamente. Pedacos de dietas artificiais foram embebidos nestas alíquotas para cada cepa e aplicados individualmente a 24 lagartas com dois dias de idade. Observou-se que a simples presença do gene Vip não significou necessariamente altas eficiências de mortalidade na fração protéica dos sobrenadantes. Esse resultado pode ser explicado por uma coleta do sobrenadante em tempos de cultura inadequados, ou pelos respectivos genes Vip serem, nesses casos, naturalmente ineficientes no controle da lagarta-do-cartucho.

Fonte Financiadora: PRONEX - Projeto: Biologia Molecular e Celular no Melhoramento de Milho Tropical e Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG