

ATIVIDADE PROTEOLÍTICA DE LINHAGENS SELVAGENS E MUTANTES DE *Metarhizium* spp.

Juliana Nascimento Martins (PIBIC-CNPq), Neiva Monteiro de Barros (orientadora), Ana Rita Fonseca Nunes (bolsista), Lúcia Rosane Bertholdo Vargas (pesquisadora) - Instituto de Biotecnologia/UCS - julianamartins@net.crea-rs.org.br

O carrapato *Boophilus microplus* causa grandes perdas econômicas na pecuária nacional, pois desvaloriza o couro, o leite e a carne, além de transmitir doenças para o gado. Para evitar o uso de acaricidas químicos, que contaminam o meio ambiente, surge a possibilidade do uso de fungos entomopatogênicos no controle desta praga. O controle biológico do carrapato com o fungo deuteromiceto *Metarhizium* spp. têm mostrado bons resultados. Os fungos entomopatogênicos utilizam pressão mecânica e liberação de enzimas durante a fase de infecção do hospedeiro. Essas enzimas degradam a cutícula do inseto ou ácaro, facilitando a penetração pelo fungo. As mais conhecidas são as lipases, proteases e quitinases. Visando entender os mecanismos envolvidos durante a infecção do hospedeiro, o objetivo deste trabalho foi analisar a produção de proteases de linhagens selvagens e mutantes do fungo *Metarhizium* spp. Foram utilizadas 4 linhagens selvagens (M5, E9, E6, CG46) e uma linhagem mutante (Mfpgr). Para avaliar a atividade enzimática inoculou-se 1ml de uma concentração de 2×10^8 con.ml⁻¹ em frascos contendo 100ml de meio Mandels & Reese (1960). Após 5 dias de crescimento em agitador orbital a 150rpm a 28°C, filtrou-se e pesou-se o micélio. Inoculou-se 1 g de micélio seco em 100ml de meio Mandels & Reese sem glicose e com 1g de quitina, para indução enzimática. Depois de 6 dias em agitação, filtrou-se novamente, reservando o caldo enzimático. O caldo foi conservado a 4°C até a análise. Em outra análise proteolítica, procedeu-se da mesma maneira, porém inoculou-se todo o micélio produzido pelas linhagens (entre 1,3g e 3,5g). A análise da atividade proteolítica foi realizada conforme metodologia descrita por Sarath et al (1989). Não houve diferenças significativas na produção de proteases a 440nm pelas linhagens quando inoculou-se 1g ou todo micélio produzido. A linhagem que apresentou maior produção da enzima foi a E6 (0,500) e a menor produtora foi a CG46 (0,299) em comparação às outras linhagens, em 1g de micélio. A produção de micélio pelas linhagens diferiu, entretanto a produção de proteases não foi relacionada com a quantidade de micélio utilizado.

Palavras-chave: *Boophilus microplus*, *Metarhizium* spp., Atividade proteolítica

Apoio: UCS, CNPq