

ATIVIDADE PROTEOLÍTICA DA LINHAGEM E6 DE *Metarhizium anisopliae* EM PRESENÇA E AUSÊNCIA DE SUBSTRATO CUTICULAR

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

O fungo *Metarhizium anisopliae* tem sido empregado no controle de diversas pragas, incluindo o carrapato bovino *Boophilus microplus*. Os conídios dos fungos entomopatogênicos podem penetrar diretamente pela cutícula dos hospedeiros utilizando pressão mecânica auxiliado por um complexo de enzimas. Essas enzimas têm importante papel na patogenicidade, pois facilitam a penetração pelo fungo. Duas proteases degradadoras de cutícula já foram caracterizadas, sendo uma com atividade tipo subtilisina (Pr1) e outra do tipo tripsina (Pr2). O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade de proteases do tipo subtilisina (Pr1) e tipo tripsina (Pr2), da linhagem E6 de *Metarhizium anisopliae*, em presença e ausência de substrato cuticular. Os cultivos foram realizados em Meio Mínimo (Pontecorvo et al., 1953) sem glicose e NaNO₃ (MMI), MMI acrescido de uma solução de cutícula do carrapato *Boophilus microplus* e da lagarta da soja *Anticarsia gemmatalis* 0,5% (p/v). Amostras foram retiradas em 0, 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 240 horas. Primeiramente analisou-se a atividade proteolítica sobre azocaseína de acordo com Charnley e Tomarelli (1947). A partir destes resultados determinou-se os períodos para avaliação das atividades específicas (Pr1 e Pr2). A atividade das proteases tipo subtilisina (Pr1) foi determinada utilizando o substrato sintético N-Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-nitroanilida e da Pr2 N-a-Benzoil-DL-Arg-r-nitroanilida. Nos ensaios com azocaseína os picos de atividade em cutícula de carrapato foram verificados em 72 e 120 horas, e em cutícula de lagarta o pico de atividade foi observado em 48 horas mantendo-se até 120 horas. Em MMI a atividade proteolítica ocorreu de forma crescente até 240 horas, mas foi inferior aos meios contendo cutícula, sugerindo que estas cutículas induzem a produção de proteases por este fungo. A atividade de Pr1 em carrapato também ocorreu em 72 horas e 120 horas e em lagarta o pico ocorreu em 72 horas. No MMI a atividade de Pr1 foi crescente, porém inferior quando comparadas com os outros meios. A atividade de Pr2 em todos os meios foi inferior a Pr1, sendo que o pico de atividade foi em 48 horas para carrapato e lagarta, e em MMI manteve-se de 24 a 96 horas, sendo ausente em 120 horas.

Palavras-chave: *Metarhizium anisopliae*, atividade proteolítica, Pr1 e Pr2

Apoio: UCS, CNPq