

## ATIVIDADE DE PROTEASES EXTRACELULARES DAS LINHAGENS E6, E6S1 E MFRp-gre DO FUNGO *Metarhizium* EM PRESENÇA E AUSÊNCIA DE SUBSTRATO CUTICULAR

Juliana Nascimento Martins (PIBIC/CNPq), Neiva Monteiro de Barros (orientadora), Ana Rita Fonseca Nunes, Lúcia Rosane Bertholdo Vargas, Márcia Cristina Furlaneto - Instituto de Biotecnologia/UCS - [julizinhmart@gmail.com](mailto:julizinhmart@gmail.com)

O fungo entomopatogênico *Metarhizium* é conhecido por causar doença em diversos insetos e ácaros. Neste processo, os conídios germinam e as hifas invadem a cutícula dos hospedeiros auxiliados por um complexo de enzimas, as quais têm importante papel na patogenicidade. Duas famílias de proteases degradadoras de cutícula já foram caracterizadas, uma com atividade tipo subtilisina (Pr1) e outra do tipo tripsina (Pr2). O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade de proteases extracelulares das linhagens E6 e E6S1 de *M. anisopliae* e a linhagem recombinante MFRp-gre de *M. flavoviride* em presença e ausência de substrato cuticular. Os cultivos foram realizados em meio mínimo líquido sem glicose e NaNO<sub>3</sub> (MMI) e MMI acrescido de cutícula do carrapato bovino *Boophilus microplus* ou da lagarta-da-soja *Anticarsia gemmatalis* 0,5% (p/v). Para a realização das análises enzimáticas retirou-se amostras em 0, 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas. Primeiramente analisou-se a atividade proteolítica sobre o substrato azocaseína, determinando-se os períodos para avaliação das atividades específicas que foram de 0 a 72 horas. Utilizou-se o substrato Suc-Ala-Ala-Pro-Phe- $\rho$ -nitroanilida para Pr1 e N- $\alpha$ -Benzoil-DL-Arg- $\rho$ -nitroanilida para Pr2. Nos ensaios com azocaseína o perfil de atividade proteolítica no meio mínimo foi basal para todas as linhagens. Nos meios acrescidos das diferentes cutículas, houve uma maior atividade proteolítica quando comparada ao MMI. Para a linhagem E6 o valor de atividade proteolítica em meios contendo cutículas foi de aproximadamente 0,6 U, para a E6S1 foi de 0,8 a 1 U e para a linhagem MFRp-gre foi de 0,2 U. Tanto o perfil de atividade de Pr1 quanto os valores foram semelhantes para as linhagens avaliadas, nos meios acrescido de cutícula. A atividade de Pr2 em todos os meios foi inferior a Pr1, sendo que no meio acrescido de cutícula de lagarta, para a linhagem E6, a atividade foi superior quando comparado aos demais meios. A linhagem E6S1 teve atividades proteolíticas superiores às demais linhagens.

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

Apoio: UCS, CNPq