

339

**PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE B-1, 3-GLICANASE PRODUZIDA POR METARHIZIUM ANISOPLIAE.** *Juliano de Oliveira Porciuncula, Irina Lübeck, Augusto Schrank, Marilene Henning Vainstein (orient.) (UFRGS).*

O carrapato *Boophilus microplus* é o mais importante ectoparasita dos rebanhos bovinos do Estado do Rio Grande do Sul e do Brasil, gerando perdas na pecuária, na produção de couro e gastos com carrapaticidas. Os efeitos negativos no ambiente requerem o desenvolvimento de estratégias alternativas no controle do carrapato bovino. *Metarhizium anisopliae* é um fungo entomopatogênico amplamente utilizado como biocontrolador no Brasil e no mundo, sendo empregado no controle do carrapato bovino *B. microplus*. Uma série de enzimas como proteases, quitinases e proteases são produzidas durante o processo de infecção do fungo no carrapato. Até o presente não existe a descrição de nenhuma enzima do tipo b-glicanase expressa durante o processo de infecção de *M. anisopliae* em *B. microplus*; porém, estudos realizados pelo nosso grupo de pesquisa evidenciaram a presença de atividade enzimática de b-1, 3-glicanase em cultivos de *M. anisopliae* em meio de cultura contendo cutícula de carrapato. Os objetivos do trabalho são a purificação e caracterização de b-1, 3-glicanases, bem como a sua imunolocalização durante o processo de infecção. Foi testado um novo protocolo de produção de b-glicanases por *M. anisopliae* substituindo N-acetilglicosamina por parede celular de *Saccharomyces cerevisiae* 1% em meio TLE como substrato para a enzima. O sobrenadante de cultivos de *M. anisopliae* foi concentrado, dialisado, e uma alíquota contendo 79mg de proteína total aplicada em uma coluna de troca iônica (Q-sepharose Fast Flow), as frações com atividade foram então concentradas e carregadas (1mg) em uma coluna de interação hidrofóbica (Phenyl Sepharose HR 5/5). A utilização da coluna de interação hidrofóbica pareceu ser eficiente para a purificação de glicanases secretadas por *M. anisopliae* sendo observado em gel SDS-PAGE 12% uma proteína com banda única de 100kDa. (PIBIC).