

019

PURIFICAÇÃO PARCIAL DE QUITINASES EXTRACELULARES PRODUZIDAS POR *Metarhizium anisopliae*. Lucélia Santi, Márcia Vanusa da Silva, Augusto Schrank, Marilene Henning Vainstein (Centro de Biotecnologia – UFRGS).

Metarhizium anisopliae é um Deuteromicete com grande potencial como agente de biocontrole contra insetos e carrapatos. O processo de infecção combina pressão mecânica com a formação do apressório e degradação da cutícula por ação sinérgica de enzimas hidrolíticas como proteases, lipases e quitinases, sendo estas últimas ditas como imprescindíveis para a patogenicidade. O presente trabalho tem por objetivo purificar quitinases produzidas por *M. anisopliae* em condições de indução. O fungo foi crescido em meio mínimo com quitina cristalina como única fonte de carbono e nitrogênio durante 7 dias a 28°C. Após o crescimento, o meio foi filtrado e o sobrenadante foi concentrado com sulfato de amônia 85%. O concentrado foi dialisado contra tampão acetato de sódio 50mM pH 5,4 e aplicado em resina de troca aniônica DEAE-Sephrose. As frações foram eluídas com um gradiente linear de NaCl (0-1M). Três picos de proteínas foram analisados: um antes e dois durante o gradiente de sal. As frações que apresentaram leitura a 280nm foram testadas com os ensaios enzimáticos específicos para quitinases, géis SDS-PAGE e de atividade quitinolítica. Estas frações foram concentradas e passadas em resina de gel filtração Sephacryl S-100. Pelos resultados obtidos, pode-se verificar a presença de mais de uma quitinase, sendo estas correspondentes a CHIT 30 e CHIT42. (PADCT III, CNPq, Fapergs, UFRGS).