

129

CLONAGEM DE DOIS GENES DE QUITINA SINTASE DE MAGNAPORTHE GRISEA EM VETOR PARA A TRANSFORMAÇÃO DE ARROZ. *Guilherme Cordenonsi da Fonseca, Rogerio Margis (orient.) (UFRGS).*

O arroz é uma planta de grande importância alimentar sendo o alimento básico da dieta de mais da metade da população mundial. O fungo *Magnaporthe grisea* é o patógeno responsável pela doença brusone do arroz que causa graves prejuízos a cultura dessa planta. A quitina é um dos principais polissacarídeos constituintes da parede celular dos fungos, portanto muito importante para a sua viabilidade. A quitina sintase é a enzima que sintetiza esse polissacarídeo, existindo até sete classes dessa proteína em fungos. O presente trabalho busca a construção de um vetor para a transformação de arroz que produza moléculas de dupla fita de RNA (dsRNA) correspondente à parte da seqüência do produto de dois genes da quitina sintase de *M. grisea* com o objetivo de tornar a planta resistente a esse fungo ao desencadear o processo de interferência por RNA (RNAi). Como alvos para o silenciamento gênico por RNAi foram utilizados os genes das quitinas sintases de classe I e III. Para a obtenção dos fragmentos dos genes da quitina sintase para a construção do vetor foram delineados primers para a amplificação de parte desses dois genes. Com o objetivo de ordenar os dois fragmentos em tandem foi utilizada uma região de seqüência comum entre os genes para a delimitação do primer senso de um gene e antissenso do outro. O RNA total do fungo foi extraído e utilizado para a síntese de cDNA utilizando-se o primer poli-T25V. Os fragmentos amplificados, utilizando-se os primers específicos de cada gene foram concatemerizados em nova reação de PCR para a formação da seqüência em tandem. Esse fragmento foi inserido no vetor pENTR-DTOPO e posteriormente no vetor pANDA, específico para a produção de moléculas de dsRNA em monocotiledôneas. (PIBIC).