

215

ANÁLISE FUNCIONAL DO GENE CHIT 1 DO FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO METARHIZIUM ANISOPLIAE. *Marcel Machado Valério, Tatiana Soares Ferreira de Souza, Marilene Henning Vainstein, Augusto Schrank (orient.) (UFRGS).*

Metarhizium anisopliae é um biocontrolador de diversas pragas da agricultura. O fungo infecta seus hospedeiros via combinação de atividades enzimáticas, como proteases, quitinases e lipases; e pressão mecânica. Em fungos as quitinases podem participar tanto no crescimento e morfogênese quanto nos processos de aquisição de nutrientes e patogênese. Várias enzimas com atividade quitinolítica em Metarhizium foram caracterizadas, três genes (genes chit1 chi2 chi3) foram isolados e parcialmente caracterizados. Visando analisar a função do gene chit1, este foi clonado e caracterizado e a sua ORF foi clonada em um vetor para superexpressar a quitinase em M. anisopliae. Em outra construção a ORF chit1 foi clonada no sentido inverso para gerar uma construção anti-senso. Para a confirmação das construções dos transformantes de M. anisopliae E6 foi utilizado PCR com primers que flanqueiam um dos íntrons permitindo diferenciar o gene selvagem (472pb) do cDNA (230pb). Para a produção de quitinases, M. anisopliae E6 e os transformantes foram cultivados em MC acrescidos com diferentes fontes de carbono: glicose 1%; quitina cristalina, 1% e cutícula de carrapato Boophilus. microplus 1%, durante os tempos: 24, 48, 72, 96, 120 e 144h. Ensaio enzimático foram realizados para a detecção de atividade de quitinase. Para testar as construções em bioensaio, foram utilizadas teleóginas de carrapato. O objetivo deste trabalho é determinar a função do gene chit1 em M. anisopliae. As construções dos transformantes de M. anisopliae foram confirmadas quanto à presença do cDNA (230pb). Resultados parciais mostram um aumento na expressão da endoquitinase de um transformante em relação ao fungo selvagem. Não foi observada diferença do efeito da superexpressão e do antisenso no processo de infecção no carrapato B. microplus. Serão verificadas possíveis alterações no desenvolvimento, morfologia e produção de esporos nos dois transformantes.