

OTIMIZAÇÃO DA TÉCNICA DE EXTRAÇÃO DE RNA DO FUNGO *METHARHIZIUM ANISOPLIAE* PARA ESTUDO DA EXPRESSÃO GÊNICA EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE CULTIVO. *Leonardo Broetto, Valéria Dutra, Augusto Schrank, Marilene Henning Vainstein* (Centro de Biotecnologia - UFRGS).

O fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* é um fungo, presente no solo, tem distribuição mundial e caracteriza-se por infectar naturalmente insetos e carrapatos. Devido a esta característica, o *M. anisopliae* tem sido muito utilizado no controle biológico. Os fatores apontados como responsáveis pela patogenicidade são produção de toxinas e secreção de enzimas hidrolíticas como as quitinases, proteases e lipases. O fungo *M. anisopliae* possui o sistema quitinolítico regulado por um mecanismo de indução-repressão, onde a quitina induz a síntese e a secreção de quitinases, enquanto a glicose reprime. O presente trabalho objetiva a detecção, clonagem e caracterização de genes diferencialmente expressados originários de duas populações de cDNA do fungo *M. anisopliae*, cultivado em diferentes condições, através da técnica de Análise de Diferença Representacional. A linhagem E₆ do fungo foi crescida em meio Mínimo contendo 10% de cutícula do carrapato *Boophilus microplus* em Meio de Cove Completo suplementado com 1% de glicose em agitação moderada a 28^oC por 48 horas. O micélio foi coletado e o RNA extraído, segundo SOKOLOVSKY *et al.*, (1990). O RNA poli (A⁺) foi purificado em colunas de oligo dT-celulose de acordo com SAMBROOK *et al.*, (1989) e testado por RT-PCR para amplificação do gene da tubulina. (Capes; CNPq; Propesq; Fapergs).