



|                   |                                                                                               |
|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Evento</b>     | Salão UFRGS 2015: SIC - XXVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS                          |
| <b>Ano</b>        | 2015                                                                                          |
| <b>Local</b>      | Porto Alegre - RS                                                                             |
| <b>Título</b>     | Estudo Funcional da Quitinase ChiMaA4 do fungo entomopatogênico <i>Metarhizium anisopliae</i> |
| <b>Autor</b>      | ELIARA ASSIS MAUZOLF                                                                          |
| <b>Orientador</b> | AUGUSTO SCHRANK                                                                               |

Estudo Funcional da Quitinase ChiMaA4 do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*

**Eliara Assis Mauzolf**, Augusto Schrank - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

A quitina é um dos principais componentes da parede celular de fungos e do exoesqueleto de artrópodes. As quitinases, enzimas que clivam o polímero de quitina liberando subunidades de N-acetilglicosamina, estão presentes em organismos que, ou necessitam remodelar a sua própria quitina ou dissolver a quitina exógena (de outros fungos ou animais). O fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* é um agente biocontrolador de artrópodes praga e também um modelo para o estudo dessas interações entre patógenos e hospedeiros, pois apresenta a capacidade de penetrar ativamente pelo exoesqueleto rico em quitina dos seus diversos hospedeiros. Em uma análise do genoma de *M. anisopliae* foi possível detectar a presença de 24 genes que codificam quitinases. Essas enzimas apresentam funções morfogênicas, nutricionais e autolíticas e atuam em diferentes etapas do desenvolvimento do fungo e na manutenção do seu ciclo de vida, no entanto, a função específica de cada uma delas ainda é desconhecida. Portanto, estudos funcionais são necessários para atribuir a função a cada uma dessas quitinases durante o ciclo de vida do fungo. Este trabalho tem por objetivo caracterizar a função da quitinase ChiMaA4 pela construção de mutantes nulos para o gene *chimaA4*, pela análise das alterações fenotípicas resultantes da deleção desse gene e pela avaliação da capacidade de infecção do mutante em hospedeiros artrópodes. Previamente, o *cassette* de deleção do gene *chimaA4* foi construído originando o vetor pPZP:: $\Delta$ A4::BAR, o qual foi utilizado para agrotransformação de *M. anisopliae*. A seleção por PCR dos transformantes obtidos indicou 11 transformantes com deleção do gene *chimaA4*. Esses foram cultivados em MCc líquido e a extração de DNA foi realizada. Após análise por *Southern blot*, foram confirmados 3 mutantes nulos. Após a obtenção dos mutantes  $\Delta$ *chimaA4*, foi efetuada a construção do plasmídeo pPZP::Sur::A4+ para obtenção da linhagem complementada. O gene *chimaA4* foi clonado no vetor pCR2.1TOPO e subclonado em pPZP::SUR a fim de obter pPZP::SUR::A4+. Após confirmações, será efetuada a agrotransformação da linhagem  $\Delta$ A4 com o plasmídeo pPZP::SUR::A4+, e linhagens complementadas serão selecionadas. Análises fenotípicas e bioensaios comparando a eficiência da infecção das linhagens mutantes, da complementada e do tipo selvagem serão realizadas utilizando os hospedeiros artrópodes *Dysdercus peruvianus* (percevejo manchador do algodão) e *Rhipicephalus microplus* (carrapato bovino).

Financiamento: FAPERGS, CNPq, CAPES.