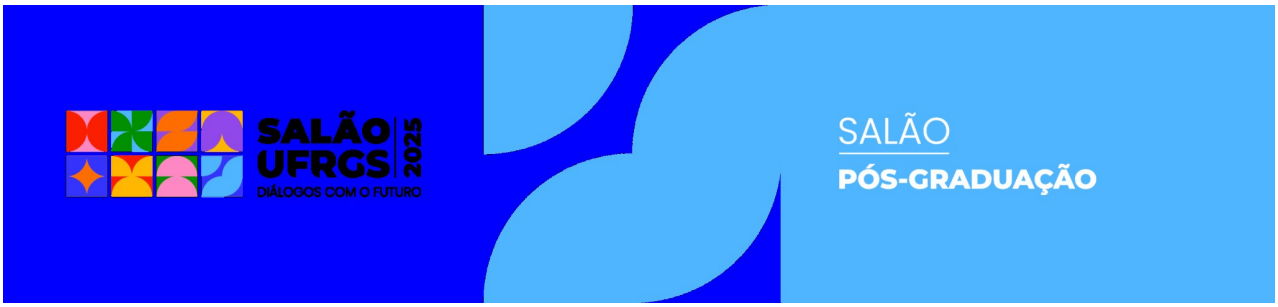


Evento	Salão UFRGS 2025: I SALÃO DA PÓS-GRADUAÇÃO
Ano	2025
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Expressão diferencial de clusters gênicos biossintéticos em Beauveria bassiana durante interação com Acanthamoeba castellanii
Autor	MARIA EDUARDA DELUCA JOÃO
Orientador	CHARLEY CHRISTIAN STAATS

RESUMO: *Beauveria bassiana* é um fungo entomopatogênico amplamente distribuído no solo e que atua no controle de insetos, sendo usado como biopesticida, uma alternativa aos pesticidas químicos. No solo, *B. bassiana* está continuamente exposta à pressão seletiva de predadores microbianos, como as amebas de vida livre (AVLs), que a capturam e digerem por meio da fagocitose. A resistência fúngica à predação tem sido associada à produção de metabólitos secundários (MSs), compostos bioativos geralmente codificados por *clusters* gênicos biossintéticos (BGCs). Neste contexto, investigamos a interação entre *B. bassiana* e *Acanthamoeba castellanii*, com foco no papel dos BGCs na resposta de defesa fúngica e no potencial amebicida da *B. bassiana*. Para isso ensaios de cocultivo foram realizados em diferentes meios e revelaram que os conídios de *B. bassiana* são eficientemente fagocitados por *A. castellanii* nas primeiras horas de interação, sendo observada a presença de três ou mais conídios em mais de 80% das amebas. Após 24 e 48 horas, o fungo apresenta capacidade de germinar intracelularmente e induz mortalidade amebiana superior a 50%, sugerindo que o estresse fagocítico pode ativar mecanismos de escape e virulência. Com isso, analisamos por RT-qPCR a expressão de genes de quatro BGCs bem caracterizados que estão envolvidos na capacidade de *B. bassiana* escapar das células de defesa dos insetos: beauvericina, bassianolida, tenelina e oosporina. Apenas os genes do cluster da oosporina, incluindo *OpS1*, *OpS3*, *OpS5* e *OpS6*, apresentaram indução transcricional significativa na presença de *A. castellanii*, destacando-se o fator de transcrição *OpS3*. Esses resultados reforçam o possível papel da oosporeína na resposta fúngica a atividade fungívora das AVLs. Após isso a atividade citotóxica da oosporina purificada foi avaliada pela viabilidade celular de *A. castellanii* utilizando o ensaio com AlamarBlue®, com concentrações de oosporeína entre 20 e 500 µM. Após 24 horas, a citotoxicidade foi observada apenas em concentrações elevadas; entretanto, após 48 horas, todas as concentrações testadas causaram redução significativa e dose-dependente na viabilidade de *A. castellanii*. Para investigar a base molecular dessa interação, realizamos análise transcriptômica por RNA-Seq, comparando o perfil de expressão gênica de *B. bassiana* em monocultivo e cocultivo. As bibliotecas foram sequenciadas na plataforma NovaSeq, tratadas com Fastp, alinhadas a um genoma concatenado (fungo + ameba) com o STAR, e analisadas com edgeR. A predição de BGCs foi realizada com o fungiSMASH e a análise funcional dos genes diferencialmente expressos (DEGs) com o EggNOG. Foram identificados 97 DEGs relacionados a BGCs, dos quais 44 apresentaram aumento de expressão, incluindo clusters conhecidos de oosporina e beauveriolídeo. Um BGC que podruz um MS híbrido ainda não identificado intitulado de NRPS/PKS3 também apresentou aumento na sua expressão. A expressão desses genes sugere sua ativação como resposta ao ataque dos fagócitos. Em conjunto, os dados sugerem que *B. bassiana* ativa vias biossintéticas específicas, sobretudo o *cluster* da oosporina,do beauveriolídeo e o NRPS/PKS3 em resposta à fagocitose por AVLs. Os próximos passos do estudo incluem a construção de mutantes *knock-out* utilizando a tecnologia CRISPR-Cas9 dos genes *backbones* dos *clusters* do beauveriolídeo e do NRPS/PKS3 e construir mutantes com superexpressão do *cluster* da oosporeina para a validação funcional desses BGCs. Esses achados ampliam o conhecimento sobre estratégias de defesa de fungos contra predadores unicelulares e reforçam o potencial biotecnológico dos MSs como agentes antiprotozoários.

PALAVRAS-CHAVE: Amebas de vida livre; Interação fungo-protista**;** *Cluster* gênico biossintético.