

A quitina é o principal componente estrutural da cutícula dos artrópodes, a qual fornece uma proteção contra agentes infectivos. A quitina também está presente como um componente majoritário na parede celular de fungos. Tanto na parede celular fúngica quanto na cutícula dos artrópodes, este polissacarídeo é degradado em subunidades de N- acetilglicosamina por enzimas nomeadas quitinases. Análises de genomas fúngicos mostram que entre 10 e 35 genes de quitinases estão presentes em fungos filamentosos. *Metarhizium anisopliae* infecta um amplo espectro de hospedeiros artrópodes pela penetração direta na cutícula dos hospedeiros e tem sido muito utilizado como agente de controle biológico. A análise *in silico* do genoma da linhagem E6 de *M. anisopliae* identificou 23 genes que provavelmente codificam para quitinases. Para determinar quais quitinases atuam no processo de remodelamento/nutrição/autólise e quais atuam no processo de infecção no hospedeiro é importante determinar a função das diferentes quitinases produzidas por estes fungos. Estudos anteriores do grupo mostraram que o gene *chimaA4* de *M. anisopliae* E6 apresenta níveis de transcritos similares em diferentes tipos celulares e sob diferentes meios de cultivo: micélio (cultivado em meio rico (MCc), micélio cultivado em meio contendo GlcNAc (0,25%) como única fonte de carbono e em meio contendo quitina 1%, micélio autolisado, conídio, apressório e blastosporo. Nosso objetivo é a caracterização da função desta quitinase pela construção de mutantes funcionais para a quitinase ChiMaA4 e a análise das alterações fenotípicas resultantes dessa deleção. Foram desenhados *primers* para amplificação das regiões flanqueadoras do gene *chimaA4* contendo aproximadamente 1000 pb cada. Através da metodologia de PCR de sobreposição (*overlapping*), foi realizada a construção do *cassette* de deleção da quitinase ChiMaA4, sendo amplificadas e fusionadas as regiões flanqueadoras do gene *chiMaA4* e o *cassette* para expressão do gene *bar* (marca para a seleção dos transformantes). O *cassette* de deleção de *chiMaA4* foi posteriormente clonado no vetor pCR 2.1. Após confirmação da construção do *cassette*, será realizada a transformação do *M. anisopliae* mediada por *Agrobacterium tumefaciens* ou por biobalística para a geração de mutantes funcionais. Posteriormente, será analisado o fenótipo do mutante construído, através de análises das alterações morfológicas e da caracterização dos processos de germinação, crescimento de hifas, esporulação, formação de apressório e formação de blastosporos nos mutantes obtidos. Seguidamente, analisaremos o mutante quanto a sua capacidade de infecção em hospedeiros artrópodes através de bioensaios no percevejo manchador do algodão *Dysdercus peruvianus* e no carrapato *Rhipicephalus microplus*.

Palavras-chave: *Metarhizium anisopliae*, quitinase, mutante funcional, agrotransformação, biobalística.