



## UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ

### PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR

# Metabolismo de Quitina: Síntese e Degradação

**Mestranda:** Dayane Santos Gomes

**Orientador(a):** Dr<sup>a</sup> Fabienne Micheli

Quitina, um homopolímero linear de  $\beta$  1-4 N-acetilglicosamina, é o mais difundido amino polissacarídeo natural da natureza. Muitos a consideram como derivada da celulose, devido a sua semelhança na estrutura molecular. Sendo a mais abundante fibra de ocorrência natural depois da celulose (Merzendorfer, 2005). A quitina é o principal constituinte dos esqueletos de artrópodes, crustáceos, parede celular de fungos e casca de ovo de nematóides (Merzendorfer e Zimoch, 2003). Atuando nestes organismos como componentes estruturais de suporte celular e de superfície do corpo (Merzendorfer, 2005). Muitos destes organismos são causadores de doenças graves em plantas cultivadas. O metabolismo de quitina se divide em processos de síntese e degradações catalisadas por enzimas específicas. As sintases da quitina (CS) são enzimas que catalisam a formação de quitina, através da transferência de N-acetilglicosamina da uridina difosfato N-acetilglicosamina (UDP-GlcNac) para o crescimento da cadeia de quitina (de  $\beta$  1-4 GlcNac) (Ruiz-Herrera et al., 1992). As CS pertencem a duas família das glicosiltransferases, a família 1 e 2, que se distribuem em pelo menos 6 classes. Estão localizadas em membranas do complexo Golgi, na membrana plasmática, bem como em vesículas intracelulares, como os chitossomos, que são responsáveis pelo transporte das CS do retículo endoplasmático para a superfície celular (Bowen et al., 1992; Specht et al., 1996; Ruiz-Herrera et al., 2002; Roncero, 2002). Elas são essenciais para o crescimento e desenvolvimento de fungos e insetos. Em fungos, elas são importantes na biossíntese da parede celular e na determinação da morfogênese, e possuem as mais variadas funções, entre elas crescimento hifal e diferenciação, formação de esporos, reparação durante a citoquinese (Cabib et al., 1996; Roncero, 2002). As sintases da quitina em insetos, funcionam como material de suporte da cutícula da epiderme e traquéia, bem como das matrizes peritróficas do revestimento do epitélio intestinal (Merzendorfer e Zimoch, 2003). As enzimas responsáveis pela degradação da quitina são as quitinases. Elas clivam as ligações glicosídicas  $\beta$ -1,4 presentes nos polímeros GlcNac (Cohen-Kupiec; Chet, 1998). Elas pertencem a duas famílias de glicosil hidrolases, famílias 18 e 19, distribuídas em cinco classes (Henrisat, 1991; Henrisat; Bairoch, 1993). Dependendo do organismo, tais enzimas têm diferentes funções. As quitinases de insetos são cruciais para o desenvolvimento pós- embrionário, especialmente durante a muda larval e pupação (Merzendorfer e Zimoch, 2003). Em plantas, atuam principalmente na defesa contra ataques de patógenos (Hamel; Bellemare, 1995; Regalado et al., 2000; Krishnaveni et al., 1999). Em fungos, as quitinases estão envolvidas em uma variedade de funções tais como digestão da parede celular, germinação e diferenciação de esporos, crescimento e autólise da hifa, assimilação de quitina e micoparasitismo (Chet et al. 1997; Gooday 1990, 1997; Kuranda e Robbins 1991; Zellinger et al. 1999). As quitinases bacterianas desempenham função nutricional liberando carbono e nitrogênio para as células a partir da hidrólise de quitina (Wiwat et al., 2002). E ainda atividade quitinolítica é encontrada em organismos que não possuem quitina na sua composição como vírus, artrópodes, nemátodos e outros animais (Cohen-Kupiec; Chet, 1998). O metabolismo de quitina atualmente vem sendo considerado um excelente alvo para o controle seletivo de pragas (Kramer; Muthukrishnan, 1997). A inibição ou desregulação das enzimas chaves são importantes objetos para o desenvolvimento de inseticidas e fungicidas. O uso de inibidores de síntese de quitina, como nicomicina, polioxinas, diflubenzuron e teflubenzuron, bem como o uso de inibidor de quitinases como alosamidin, argifin e argadin, apresentam-se bastantes eficazes no controle de fitopatógenos (Merzendorfer, 2005; Merzendorfer e Zimoch, 2003). As quitinases por ter a capacidade de dissolver a parede celular de vários fungos e insetos tem tido diversas aplicações no controle de pragas. Em fungos, por possuir tal capacidade tem sido usadas na geração de protoplastos (Yano et al., 2004). Genes de quitinases isolados de diferentes espécies de

insetos têm sido aplicados na transformação de plantas, que passaram a apresentar um aumento na atividade inseticida. Genes de quitinases de insetos estão agora disponíveis para aplicação como biopesticidas em programas de manejo integrado de pragas (Kramer; Muthukrishnan, 1997). Muitas plantas transgênicas contendo genes de quitinases vegetais têm sido produzidas visando aumentar a resistência a fitopatógenos. E ainda os organismos produtores de quitinases têm sido usados na agricultura como um efetivo agente de biocontrole contra vários fungos fitopatogênicos (Kapat et al. 1996; Elad et al. 1982). Assim, o estudo e a caracterização de genes envolvidos no metabolismo de quitina (síntese e degradação) darão suporte ao desenvolvimento de estratégias de controle de fitopatógenos bem como possibilitará um avanço na compreensão da biologia dos organismos estudados.

## Referências Bibliográficas

- Bowen, A. R., Chen-Wu, J. L., Momany, M., Young, R., Szaniszló, P. J. & Robbins, P. W. Classification of fungal chitin synthases. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, v. 89, p.519–523, 1992.
- Cabib, E., Shaw, J. A., Mol, P. C., Bowers, B. & Choi, W. J. Chitin biosynthesis and morphogenetic processes. In *The Mycota. Biochemistry and Molecular Biology*. Editado por R. Brambl & G. A. Marzluf. Berlin, Germany:Springer, v. III, p. 243–267, 1996.
- Chet, I., Inbar, J. & Hadar, Y. Fungal antagonists and mycoparasites. In: Wicklow, D. T., Söderström, B. (Eds.) *The Mycota IV. Environmental and microbial relationships*, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, p. 165-184, 1997.
- Cohen-Kupiec, R. & Chet, I. The molecular biology of chitin digestion. *Current Opinion Biotechnology*, v. 9, p. 270-277, 1998.
- Elad Y., Chet I., & Henis Y. Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. *Can. J. Microbiol.*, v.28, p. 719- 725, 1982.
- Gooday, G. W. Physiology of microbial degradation of chitin and chitosan. *Biodegradation*, v. 1, p. 177-190, 1990.
- Hamel, F. & Bellemare, G. Characterisation of a class I chitinase gene and of wound-inducible, root and flower-specific chitinase expression in *Brassica napus*. *Biochimica et Biophysica Acta.*, v. 1263, p. 212-220, 1995.
- Henrissat, B. & Bairoch, A. New families in the classification of glycosyl hydrolases based on amino acid sequence similarities. *Biochemical Journal.*, v. 293, p. 781-788, 1993.
- Kapat A., Rakshit S.K. & Panda T. Parameter optimization of chitin hydrolysis by *Trichoderma harzianum* chitinase under assay conditions. *Bioproc. Eng.*, v.14, p.275-279, 1996.
- Kramer, K. J. & Muthukrishnan, S. Insect chitinases: molecular biology and potential use as biopesticides. *Insect Biochemistry and Molecular Biology.*, v. 27, n. 11, p. 887-900, 1997.
- Krishnaveni, S. et al. Purification and partial characterisation of chitinases from sorghum seeds. *Plant Science.*, v. 144, p. 1-7, 1999.
- Kuranda, M. J. & Robbins, P. W. Chitinase is required for cell separation during growth of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal Biological Chemistry.*, v. 266, p. 19758-19767, 1991.
- Merzendorfer H. & Zimoch L. Insect chitin synthases: review. *J. Exp. Biol.*, v.206, p. 4393–4412, 2003.
- Regalado, A. P. et al. The *Lupinus albus* class-III chitinase gene, IF3, is constitutively expressed in vegetative organs and developing seeds. *Planta*, v. 210, p. 543-550, 2000.
- Roncero, C. The genetic complexity of chitin synthesis in fungi. *Curr. Genet.*, 41, p 367-378, 2002.
- Ruiz-Herrera, J., Gonzalez-Prieto, J. M. & Ruiz-Medrano, R. Evolution and phylogenetic relationships of chitin synthases from yeasts and fungi. *FEMS Yeast Res.*, v. 4, p. 247-256, 2002.
- Specht, C. A., Liu, Y., Robbins, P. W. et al. The chsD and chsE genes of *Aspergillus nidulans* and their roles in chitin synthesis. *Fungal Genet. Biol.*, v. 20, p.153-167, 1996.
- Wiwat, C. et al. Cloning, sequencing, and expression of a chitinase from *Bacillus circulans* No. 4.1. *Current Microbiology*, v. 44, p. 167-172, 2002.
- Yano, S. et al. A chitinase indispensable for formation of protoplast of *Schizophyllum commune* in basidiomycete-lytic enzyme preparation produced by *Bacillus circulans* KA-304. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, n. 68, v. 6, p. 1299-1305, 2004.
- Zellinger, S. et al. Chitinase gene expression during interaction of *Trichoderma harzianum* with its host. *Fungi Genetic Biology*, v. 26, p. 131-140, 1999.