

230

DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS DE TRANSFORMAÇÃO PARA O FUNGO METARHIZIUM ANISOPLIAE. Mariana Fitarelli, Charley Christian Staats, Marilene Henning Vainstein, Augusto Schrank (orient.) (UFRGS).

Metarhizium anisopliae é um fungo entomopatogênico capaz de infectar um amplo espectro de hospedeiros e utilizado em controle biológico. O fungo utiliza uma combinação de pressão mecânica e ação sinérgica de enzimas hidrolíticas para penetrar através da cutícula do hospedeiro. Embora seja o entomopatógeno melhor caracterizado, poucos determinantes da patogenicidade foram caracterizados. Trabalhos do nosso grupo e outros disponibilizaram diversos genes candidatos a participar da infecção. Para determinar a função destes genes, duas estratégias têm sido utilizadas: (i) a super-expressão ou (ii) a inativação do gene a ser testado. Ambas abordagens necessitam de sistemas de transformação eficientes. As metodologias de transformação genética por bombardeamento e eletroporação de protoplastos foram aplicadas a *Metarhizium* mas não apresentam eficiência adequada. Além disso, a inserção de cassetes para a expressão por transgenes geralmente é baseada na co-transformação, acarretando na laboriosa busca por co-transformantes. O objetivo deste trabalho é otimizar o processo de transformação de *M. anisopliae* mediada por *Agrobacterium tumefaciens*. Para tal, foram subclonados no vetor binário pPZP201BK os cassetes de expressão dos genes *bar* (confere resistência a glifosinato de amônio) e *sgfp* (codifica a proteína verde fluorescente GFP). A linhagem EHA105 de *A. tumefaciens* foi utilizada nos experimentos de transformação do fungo. Em dois experimentos de transformação foram obtidos 22 transformantes, que apresentaram intensa coloração verde em microscopia de fluorescência, evidenciando a expressão de GFP. Estes transformantes foram analisados por métodos de hibridização e por PCR de regiões específicas. Também demonstramos a exequibilidade de trabalhar com mais de um gene marcador na mesma transformação. Este sistema associado a promotores homólogos fortes permitirão os estudos de descoberta da função de genes isolados. (PIBIC).