

149

DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS DE TRANSFORMAÇÃO PARA O FUNGO *METARHIZIUM ANISOPLIAE* BASEADOS EM MARCAS AUXOTRÓFICAS. *Melissa Camassola, Augusto Schrank¹, Marilene H. Vainstein²*, (Depto de Biologia Molecular e Biotecnologia¹, Depto de Microbiologia² Centro de Biotecnologia, UFRGS).

M. anisopliae é o entomopatógeno melhor caracterizado e tem sido extensivamente utilizado para o controle biológico de pragas. Mais recentemente, este fungo foi mostrado ser capaz de infectar, com alta eficiência, carrapatos e sua utilização para o controle destes ácaros tem sido proposta. Estamos estudando a função de alguns genes de *M. anisopliae* no processo de penetração dos hospedeiros e uma etapa fundamental é a re-introdução de genes isolados no fungo para testar sua participação no processo de infecção. Sistemas de transformação são, portanto, fundamentais para a continuidade deste trabalho. Desenvolvemos anteriormente, um sistema de transformação baseado no fungicida benomil, entretanto, o uso de resistência a drogas é inaceitável do ponto de vista ambiental. Este projeto visa o desenvolvimento de sistemas homólogos de transformação baseados em marcas auxotróficas. Anteriormente clonamos e caracterizamos o gene *trpC* de *M. anisopliae*, envolvido na biossíntese de triptofano. Buscamos atualmente o isolamento de mutantes Trp^- para servir de receptores no sistema de transformação. Tentamos, sem sucesso, o isolamento destes mutantes por métodos convencionais, utilizando radiação com U.V. e drogas mutagênicas. Estamos propondo a utilização de um sistema de mutação baseado na manipulação direcionada de genes cromossômicos pela transformação de fragmentos de DNA, contendo mutações aleatórias, e sua recombinação homóloga (conversão gênica). Para gerar estes fragmentos de DNA utilizamos a amplificação por PCR com *TaqPol*, em condições que aumentam a taxa de erro na amplificação. Para isso utilizamos uma região de 561pb interna do gene *trpC* no domínio de atividade PRAI. Estes fragmentos alterados serão utilizados para transformar *M. anisopliae* e os prováveis mutantes serão selecionados em meio contendo a droga 5-metil antranilato. (CNPq-PIBIC-FAPERGS-PADCT/UFRGS).