



**Universidade:  
presente!**

**UFRGS**  
PROPEAQ



**XXXI SIC**

21. 25. OUTUBRO • CAMPUS DO VALE

<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2019: SIC - XXXI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2019
<b>Local</b>	Campus do Vale - UFRGS
<b>Título</b>	Desenvolvimento de ferramentas para o estudo do fungo entomopatogênico <i>Metarhizium anisopliae</i>
<b>Autor</b>	AUGUSTO BARTZ PENTERICHE
<b>Orientador</b>	AUGUSTO SCHRANK

**Desenvolvimento de ferramentas para o estudo do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*** – Augusto B. Penteriche; Orientador Augusto Schrank – Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

*Metarhizium anisopliae* é um fungo entomopatogênico que infecta uma vasta gama de hospedeiros artrópodes. Diversos dos hospedeiros suscetíveis possuem importância social e econômica, como pragas de lavoura e vetores de doenças animais e humanas. A infecção por *M. anisopliae* se inicia com a adesão de esporos à cutícula do hospedeiro, seguido da germinação destes em tubos germinativos, e posterior diferenciação destes tubos em uma estrutura especializada denominada apressório, a qual realiza a secreção de enzimas hidrolíticas e exerce pressão mecânica a fim de romper a cutícula do artrópode, ocasionando a infecção. Notavelmente, esporos de *M. anisopliae* compõe mais de um terço das formulações de pesticidas biológicos disponíveis comercialmente. No entanto, sua eficácia ainda está muito aquém da de pesticidas químicos, amplamente usados e de impacto conhecido para a saúde e o meio ambiente. Assim, o presente trabalho tem o objetivo de melhorar as ferramentas moleculares disponíveis para o estudo de *M. anisopliae*. Para tanto, buscou-se primariamente a padronização do sistema expressão da proteína fluorescente TURBOFP635 (Katushka) em *M. anisopliae*, a fim de utilizá-la como *gene-reporter*. Esta proteína tem se mostrado eficiente para ensaios *in vivo*, uma vez que ela emite fluorescência em comprimentos de onda capazes de ultrapassar o comprimento de absorção da maioria dos tecidos vivos. Assim, os vetores necessários foram construídos utilizando o método de Hot Fusion. Todas as construções necessárias foram clonadas no vetor binário pPZP201BK para transformação em *M. anisopliae* utilizando o método de ATMT (*A. tumefaciens mediated transformation*). Em um primeiro momento, a fim de verificar se a proteína fluorescente funcionaria em *M. anisopliae*, foi construído um *cassette* de expressão contendo o gene *Katushka* sob controle da região promotora da gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase de *Aspergillus nidulans*; Esta região tem sido utilizada em diversos trabalhos, tendo se mostrado uma ótima região promotora para expressão constitutiva em fungos do gênero *Metarhizium*. Os resultados indicaram que a proteína é funcional, tendo sido isoladas diversas linhagens transformantes de *M. anisopliae* que apresentaram a fluorescência típica deste *gene-reporter*. Na segunda etapa do trabalho, regiões de 1000, 750 e 500 pares de base (pb) à montante do gene da gamma-actina de *M. anisopliae* (1); regiões de 1000, 750 e 500 pb à montante do gene da gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase de *M. anisopliae* (2); regiões de 1000, 750 e 500 pb à montante do gene *trp1* de *M. anisopliae* (3) e regiões de 500 e 310 pb à montante do gene da beta-tubulina de *M. anisopliae* (4) foram clonadas à montante do gene *Katushka*. Estas regiões promotoras putativas regulam a expressão de genes *housekeeping* em *M. anisopliae*, e a sua caracterização resultará, putativamente, em sequências regulatórias com expressão constante em diversas condições e tipos celulares do fungo. As transformações de *M. anisopliae* com estas construções, bem como ensaios fenotípicos das linhagens transformantes ainda estão em andamento.