

228

DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE INATIVAÇÃO GÊNICA EM METARHIZIUM ANISOPLIAE. *Ângela Junges, Charley Christian Staats, Augusto Schrank, Marilene Henning Vainstein (orient.) (UFRGS).*

O fungo filamentosso *Metarhizium anisopliae* é amplamente utilizado para o biocontrole de insetos praga e como uma alternativa ao uso de pesticidas químicos. Sua infecção no hospedeiro depende de vários fatores, entre eles a adesão e a germinação do esporo, a diferenciação da extremidade distal do tubo germinativo em apressório e a penetração através da cutícula. Ocorre também a secreção de várias enzimas hidrolíticas relacionadas à degradação da cutícula. O estudo dos genes que codificam essas enzimas permitirá a elucidação de mecanismos de infecção possibilitando a descoberta de genes que são determinantes da patogenicidade. Atualmente estão disponíveis vários genes candidatos a determinantes de patogenicidade. Um dos métodos de determinar a função de genes isolados é a sua interrupção *in vivo* e o estudo das alterações ocasionadas. Como primeiro passo na implementação de um sistema de inativação gênica em *M. anisopliae*, foi escolhido o gene *trp1*, o qual está envolvido na biossíntese de triptofano. Mutantes deste gene conferem auxotrofia a triptofano e portanto dependem de uma fonte exógena do aminoácido para seu desenvolvimento. Para a inativação do gene *trp1* foi construído um cassete contendo o gene *bar*, que confere resistência ao glifosinato de amônio, flanqueado por seqüências 5' e 3' do gene *trp1*. Este cassete foi introduzido em *Metarhizium* utilizando o sistema de transformação mediado por *Agrobacterium tumefaciens*. De 159 colônias resistentes a glifosinato de amônio obtidas em três experimentos de transformação, 39 eram auxotróficas para triptofano. Análises de hibridização (Southern) confirmaram a recombinação no sítio homólogo e experimentos de RT-PCR mostraram a produção de um transcrito truncado. Este sistema de inativação gênica irá possibilitar a descoberta da função de genes isolados no processo de infecção de hospedeiros por *Metarhizium*. (PIBIC).