



## SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA XXVIII SIC

paz no plural



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2016: SIC - XXVIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2016
<b>Local</b>	Campus do Vale - UFRGS
<b>Título</b>	Estratégias de geração de mutantes para estudos funcionais em <i>Metarhizium anisopliae</i> : Construção de linhagens $\Delta$ Ku70
<b>Autor</b>	ALEXIA DE MATOS CZECZOT
<b>Orientador</b>	MARILENE HENNING VAINSTEIN

Estratégias de geração de mutantes para estudos funcionais em *Metarhizium anisopliae*:  
Construção de linhagens  $\Delta$ Ku70

Alexia de Matos Czczot  
Orientador: Marilene Henning Vainstein

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

O fungo *Metarhizium anisopliae* é capaz de infectar diversas espécies de hospedeiros artrópodes, sendo utilizado em escala comercial para o controle de pragas da agricultura e da pecuária. É um organismo-modelo para o estudo das interações patógenos-hospedeiros. A caracterização da função gênica pela construção de mutantes nulos é uma das abordagens mais utilizadas para caracterizar a infecção, realizada a partir da interrupção do *locus* de interesse via recombinação homóloga. Entretanto, sua eficiência é baixa em fungos filamentosos uma vez que a recombinação não homóloga é a principal via de reparo. Entre as proteínas envolvidas neste processo estão o heterodímero Ku, proteína quinase dependente de DNA e o complexo ligase IV-Xrcc4. Mutantes na via de recombinação não homóloga aumentam a frequência de recombinação homóloga. Portanto, o objetivo deste trabalho é construir mutantes para o gene *ku70* em *M. anisopliae* com maior taxa de recombinação homóloga. Estas linhagens serão utilizadas na montagem de um sistema mais eficiente para a geração de mutantes funcionais para genes alvo neste fungo. Construímos um *cassette* de deleção para o gene *ku70*, que foi clonado no vetor binário pPZP201BK, construindo o vetor pPZP:: $\Delta$ Ku70::nat. Este vetor foi utilizado na transformação de *M. anisopliae* mediada por *Agrobacterium tumefaciens*. A seleção do mutante com o *locus* do gene *ku70* interrompido foi realizada pela extração de DNA e a análise por PCR identificou 6 potenciais mutantes. A confirmação dos mutantes foi realizada por análise do padrão de integração utilizando *Southern blot*. Os mutantes de Ku70 selecionados foram submetidos a teste de tolerância a estressores abióticos a fim de avaliar se a sensibilidade a estes compostos foi alterada. A taxa de crescimento e morfologia formam similares a da linhagem selvagem. Para confirmar o aumento da recombinação homóloga neste mutante, cinco mutantes foram utilizados na construção de um mutante nulo para o gene *chimaD1*, que codifica a quitinase ChiMaD1 neste organismo. Esta análise inicial indica que a taxa de recombinação homóloga aumentou de 1 % na linhagem selvagem para aproximadamente 40 % na linhagem  $\Delta$ ku70. A eficiência de infecção dos mutantes será avaliada por bioensaio com *Tenebrio molitor* e *Palembus dermestoides*.

Financiamento: CNPq e CAPES.