

093

ANÁLISE DE GENES ENVOLVIDOS NA RESPOSTA A ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO NO FUNGO ENTOMOPATÓGENO METARHIZIUM ANISOPLIAE. Natália Schneider, Charley Christian Staats, Ângela Junges, Marilene Henning Vainstein, Augusto Schrank (orient.) (UFRGS).

O fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* é um agente para o controle biológico de insetos, possuindo vários fatores de virulência ainda não elucidados completamente. Apesar da descrição de genes diferencialmente expressos em condições de infecção e de desenvolvimento vegetativo, os genes envolvidos nestes processos ainda não estão totalmente descritos. Estratégias globais para a análise de genes têm sido aplicadas em fungos filamentosos, principalmente através da construção e análise de bibliotecas de mutantes por inserção. Para melhor compreensão dos mecanismos de virulência de *M. anisopliae*, está sendo construído um banco de mutantes por inserção utilizando a Agro-transformação. Para tal, o cassete de expressão do gene *bar*, que confere ao fungo transformado resistência a glifosinato de amônio, foi clonado no vetor binário pPZP201BK e transformado em células quimiocompetentes de *Agrobacterium tumefaciens* cepa EHA105. Experimentos de co-cultivo estão sendo realizados para a obtenção de transformantes de *M. anisopliae*. Após o desenvolvimento das colônias em meio seletivo, repiques para placas de 96 poços contendo meio MC para armazenamento ou de 24 poços contendo meio MC acrescido de 10 mM de H₂O₂ serão realizados para a análise dos transformantes, visto que a produção de espécies reativas de oxigênio constitui uma das linhas de defesa do sistema imunológico de insetos contra a infecção. Atualmente, o banco de mutantes possui aproximadamente 650 de um total de 5.000 mutantes que serão obtidos. Os transformantes hipersensíveis ao peróxido de hidrogênio terão a seqüência do gene inativado identificada e bioensaios utilizando o inseto *Dysdercus peruvianus* serão realizados para avaliar possíveis alterações de virulência. (PIBIC).