

OBTENÇÃO DE TRANSFORMANTES DO FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *METARHIZIUM ANISOPLIAE*. Kogler, V.; Franceschini, M.; Baratto, C.M.; Vainstein, M.; Schrank, A. (Departamento de Biologia Molecular, Centro de Biotecnologia, UFRGS).

O cDNA do gene *pr1A* de *M. anisopliae*, codificando para protease PR1A, foi clonado no vetor pAN52.1*Bam*HI. A construção pAN52.1Bpr1A foi co-transformada com vetor pBT6, com marca de seleção para benomil, no mesmo fungo. A análise da co-transformação foi realizada através de uma PCR com *primers* específicos para o plasmídeo pAN52.1*Bam*HI. Apenas dois dos transformantes, estáveis em relação à resistência ao benomil, amplificaram fragmento de DNA de tamanho esperado. Um *Southern* confirmou que o fragmento amplificado correspondia ao gene *pr1A*. O gene *ch11* de *M. anisopliae*, que codifica para quitinase CHI58, vem sendo isolado por *screening* de banco de cDNA do fungo, utilizando como sonda um fragmento interno do gene amplificado por PCR. Paralelamente está sendo desenvolvido um sistema de transformação alternativo com seleção de mutantes auxotróficos baseados na via da síntese de pirimidinas. Esta marca de seleção foi gerada a partir da complementação da mutação induzida no fungo *M. anisopliae* com a introdução de um plasmídeo contendo o gene *pyr-4* de *Neurospora crassa*. O DNA genômico dos transformantes considerados estáveis vem sendo submetido à técnica de *Southern* para confirmação da transformação. (PADCT III, CNPq, Fapergs).