

Desenvolvimento de um novo vetor CRISPR para edição gênica de *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: clavicipitaceae)⁽¹⁾

Maria Letícia de Siqueira Virgílio⁽²⁾, *Liriel Helen Rodrigues Maciel*⁽²⁾, *Marcio Vinicius de Carvalho Barros Cortes*⁽³⁾ e *Eliane Dias Quintela*⁽⁴⁾

⁽¹⁾ Pesquisa financiada pela Embrapa Arroz e Feijão e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). ⁽²⁾ Estagiárias, Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO. ⁽³⁾ Analista, Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO. ⁽⁴⁾ Pesquisadora, Embrapa da Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO.

Resumo - *Metarhizium anisopliae* tem uma gama de funções ecológicas, possuindo grande potencial para desenvolvimento de biopesticidas com múltiplos papéis para melhorar a produção dos sistemas agrícolas em todo o mundo. A compreensão dos mecanismos de patogênese e dos genes relacionados a virulência do fungo ainda não foram inteiramente elucidados. Sistemas CRISPR/Cas podem ser excelentes ferramentas para auxiliar nesses estudos. Entretanto, não há relato na literatura da sua aplicação em *M. anisopliae*, principalmente em razão da dificuldade em se definir um marcador para seleção efetivo. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um vetor plasmidial CRISPR/Cas9 autoreplicativo (AMA1) e não integrativo, contendo marcador para seleção efetivo no processo de edição gênica de *M. anisopliae*. Chlorimuron-ethyl, além de herbicida, também apresenta ação fungicida em algumas espécies, e o gene de resistência a este é conhecido (*sur* – acetolactato sintase, gene de *Magnaporthe oryzae*). Nesse sentido, um primeiro experimento foi realizado para determinar a sensibilidade de *M. anisopliae* ao chlorimuron-ethyl. No segundo experimento, protoplastos de *M. anisopliae* foram transformados geneticamente com plasmídeo pM11 vazio contendo gene *sur*, AMA1 e *Cas9*, sem gRNA. Foi determinada que a concentração de chlorimuron-ethyl inibitória ao crescimento do fungo é de 25 µg/ml. Após 7 dias de incubação, foram observadas 20 colônias de transformantes e zero colônias na placa controle, ambas em placa de Petri contendo chlorimuron. Portanto, chlorimuron-ethyl pode ser um marcador de seleção e o plasmídeo pM11 é efetivo no processo de transformação de *M. anisopliae*, apresentando potencial para experimentos de edição gênica do fungo. Assim sendo, contribui com a OSD 15 – Vida Terrestre.