

MARIANA DRUMMOND COSTA IGNACCHITI

ELEMENTOS TRANSPONÍVEIS DA CLASSE II EM *Crinipellis perniciosa*.

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2005

RESUMO

IGNACCHITI, Mariana Drummond Costa, M. S., Universidade Federal de Viçosa, Julho de 2005. **Elementos transponíveis da classe II em *Crinipellis perniciosa***. Orientadora: Marisa Vieira de Queiroz. Conselheiros: Elza Fernandes de Araújo e Hilário Cuquetto Mantovani.

Este trabalho relata o isolamento e caracterização de dois elementos transponíveis da classe II no fungo *Crinipellis perniciosa* a partir de seqüências disponibilizadas no banco de dados do projeto “Genoma da Vassoura-de-Bruxa”. Este fungo é de grande importância econômica, uma vez que é o causador da mais séria enfermidade da cacauicultura. O prévio acesso ao banco de dados do projeto “Genoma da Vassoura-de-Bruxa” disponibilizou seqüências que apresentaram homologia a conhecidos elementos transponíveis pertencentes às superfamílias *Tc1/mariner* e *hAT*. Estas seqüências foram utilizadas para a construção de oligonucleotídeos. Um fragmento de DNA específico para cada elemento foi utilizado como sonda para o isolamento de elementos completos. Estes elementos foram isolados a partir do banco genômico de *C. perniciosa* construído no vetor λ EMBL3 (Stratagene), sendo denominados *Mico* e *Guppy*. A análise da seqüência parcial do elemento *Mico* no banco de dados NCBI demonstrou alta similaridade com o domínio funcional DDE, domínio catalítico presente em transposases da superfamília *Tc1/mariner*. Para a seqüência parcial do elemento *Guppy*, foram evidenciadas regiões de conservação de aminoácidos, apesar de não indicar a presença dos domínios conservados I, II e III (*hATC*), essenciais para a atividade de transposição

dos elementos da superfamília *hAT*. A análise da expressão destes elementos realizada neste trabalho não forneceu evidências da atividade destes elementos, sob condições de estresse por temperatura e concentração salina. A análise de distribuição dos elementos *Mico* e *Guppy*, em diferentes isolados pertencentes a diferentes biótipos de *C. perniciosa*, pelas técnicas de PCR e hibridização sugere a presença de cópias polimórficas e a ocorrência de subfamília destes elementos no genoma de *C. perniciosa*. O perfil de hibridização homogêneo do elemento *Guppy* fornece indícios de que este seja um elemento não-nativo e tenha sido adquirido por um ancestral comum dos biótipos. Já o perfil de hibridização do elemento *Mico* permitiu o agrupamento dos diferentes isolados do biótipo C, relacionando com as diferentes regiões geográficas das quais os fungos foram isolados, demonstrando, assim, o seu potencial para o uso como marcador molecular.

ABSTRACT

IGNACCHITI, Mariana Drummond Costa, MS, Universidade Federal de Viçosa, July, 2005. **Transposable elements of class II in *Crinipellis perniciosa***. Advisor: Marisa Vieira de Queiroz. Committee Members: Elza Fernandes de Araújo and Hilário Cuquetto Mantovani.

This study reports the isolation and characterization of two class II transposable elements in the fungus *Crinipellis perniciosa* from sequences available in the data bank of the "Witch's Broom Genome" project. This fungus is of great economic importance once it is the causal agent of the most serious disease in cocoa crop. Previous access to the data bank of the "Witch's Broom Genome" project allowed the identification of sequences with homology to known transposable elements belonging to the superfamilies *Tc1/mariner* and *hAT*. These sequences were used for the construction of oligonucleotides. A specific DNA fragment for each element was used as a probe for the isolation of the complete elements. These elements were isolated from *C. perniciosa* genomic bank constructed in the vector λ EMBL3 (Stratagene) and named *Mico* and *Guppy*. The analysis of the partial sequence of *Mico* element in NCBI database showed high similarity to the DDE functional domain, which is a catalytic domain present in transposases of the superfamily *Tc1/mariner*. Conserved aminoacids regions were evidenced in the analysis of the partial sequence of *Guppy* element, although they did not indicate the presence of the I, II or III conserved domains (*hATC*), essential for the transposition activity of the elements of the superfamily *hAT*. The analysis of the expression of these elements performed in this study did not give evidence of the activity of these elements under stress conditions of temperature and salt concentration. The analysis

of distribution of *Mico* and *Guppy* elements in different isolates from different biotypes of *C. pernicios* by PCR and hybridization techniques suggests the presence of polymorphic copies and the occurrence of subfamilies of these elements in *C. pernicios* genome. The homogenic hybridization profile of *Guppy* element offers proofs that it may be a non-native element and may be acquired by a common ancestor of the biotypes. The hybridization profile of *Mico* element allowed the grouping of the different isolates of the biotype C relating to the different geographic regions from which the fungi were isolated, showing its potential as a molecular mark.