

Distribuição de retroelementos em cromossomos de *Coffea* L. (Rubiaceae)

Yuyama, PM¹; Pereira, LFP²; Sera, T³; Vilas-Boas, LA¹; Vanzela, ALL¹

¹Departamento de Biologia Geral, Universidade Estadual de Londrina

²Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA-Café

³Instituto Agrônomo do Paraná, IAPAR
andrevanzela@uel.br

Palavras-chave: DNAr, FISH, heterocromatina, retroelemento e *Ty3-gypsy-like*.

Introdução: O gênero *Coffea* L. (Rubiaceae) possui mais de 100 espécies, nativas das florestas tropicais da África e Madagascar. *Coffea arabica* é a espécie mais importante economicamente, autocompatível e a única tetraplóide do gênero com $2n = 44$. As demais espécies são diplóides com $2n = 22$ e autoincompatíveis. Estudos moleculares e de hibridação genômica *in situ* revelaram que as espécies de *Coffea* apresentam elevada similaridade genômica, podendo ser consequência da presença de famílias de DNA repetitivo em comum. Objetivos: Isolar e caracterizar elementos repetitivos em *C. arabica* variedade *typica* para utilizá-los como sondas em experimentos de hibridação *in situ* (FISH) em outras seis espécies do gênero, como *C. canephora*, *C. eugenoides*, *C. kapakata*, *C. liberica* var. *dewevrei*, *C. racemosa* e *C. stenophylla*. Métodos: Foram feitas análises citogenéticas das sete espécies de *Coffea*. Para confecção das lâminas, raízes foram digeridas em celulase/pectinase e esmagadas em ácido acético 60%. No bandamento C-CMA/DAPI, as lâminas foram tratadas em ácido acético 45%, $Ba(OH)_2$ e $2\times SSC$, e coradas com CMA e DAPI. Para o isolamento de DNA repetitivo, o DNA genômico de *C. arabica* var. *typica* foi usado como molde para a reação de DOP-PCR. Os fragmentos gerados foram inseridos nos vetores, clonados e caracterizados a partir do sequenciamento. Resultados: O bandamento cromossômico mostrou predomínio de bandas terminais e intersticiais com diferenças no tamanho, número, distribuição e composição de bases. *Coffea arabica* e *C. canephora* mostraram bandas CMA⁺ e DAPI⁺ intersticiais próximas ao centrômero na maioria dos cromossomos, enquanto as outras espécies mostraram poucas bandas. As bandas CMA⁺ foram encontradas nas regiões terminais, associadas ou não à RON, e intersticiais próximos ao centrômero. As bandas DAPI⁺ foram encontradas somente nas regiões intersticiais próximos ao centrômero, exceto em *C. liberica* var. *dewevrei* e *C. racemosa*. A FISH com a sonda de DNAr 45S mostrou dois e quatro sítios de hibridação, com exceção de *C. arabica*, com seis sítios. A partir da DOP-PCR, foram feitos o isolamento e a caracterização de dois retroelementos: i) fragmento de grupo indeterminado com 292 pb (pCa21) e ii) fragmento do retroelemento *Ty3-gypsy-like* com 775 pb (pCa06). Esses clones foram utilizados como sondas na FISH, mostrando blocos e sinais dispersos na maioria dos cromossomos. Foram observados sinais co-localizados para os dois clones e alguns sinais específicos em determinadas regiões para cada clone, sugerindo que pCa21 e pCa06 sejam elementos diferentes. Conclusões: A distribuição das regiões heterocromáticas, sítios de DNAr 45S e dos retroelementos indicam que as famílias de DNA repetitivo se acumularam de modo independente na formação cariotípica dessas espécies. Este estudo mostrou que a elevada similaridade genômica entre estas espécies podem em parte ser explicada pela ocorrência comum desses retroelementos. Órgão financiador: CNPq, ProPPG-UEL e Instituto Agrônomo do Paraná