

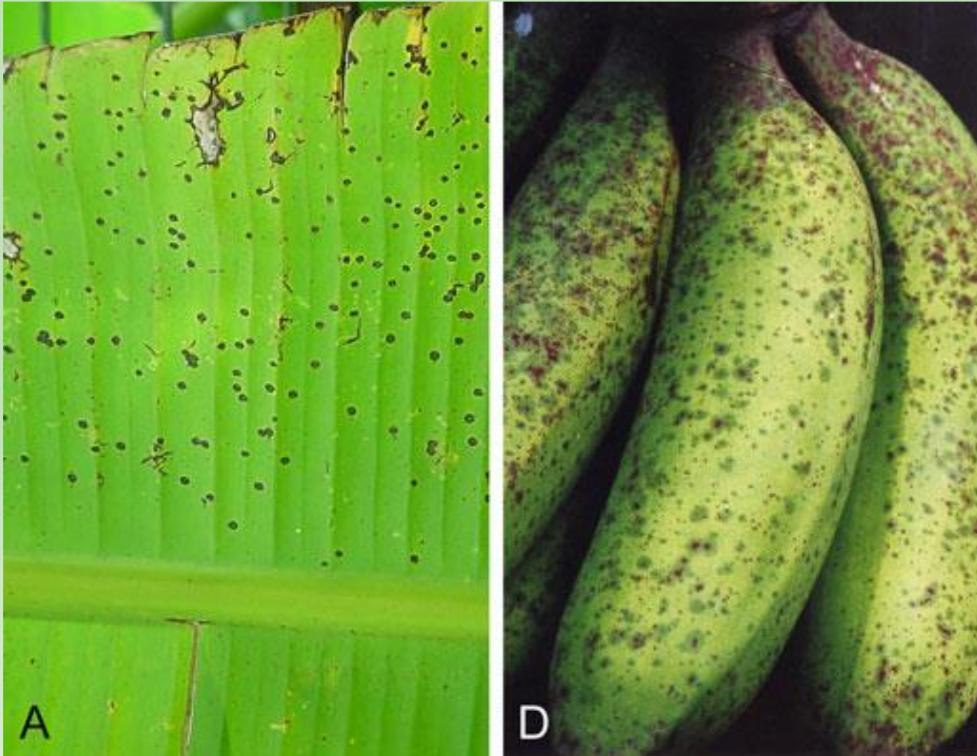
# **Estudo de caso: comparação de genomas de espécies de Phyllosticta associadas a citros**

Desirrê Petters-Vandresen

Módulo I – Genômica no Estudo de Microrganismos

# Gênero *Phyllosticta*

Complexo *Phyllosticta musarum*



Complexo *Phyllosticta ampellicida*



# Mancha Preta dos Citros (MPC) – *Phyllosticta citricarpa*

**Mancha preta/dura**



**Mancha sardenta**



**Mancha virulenta**



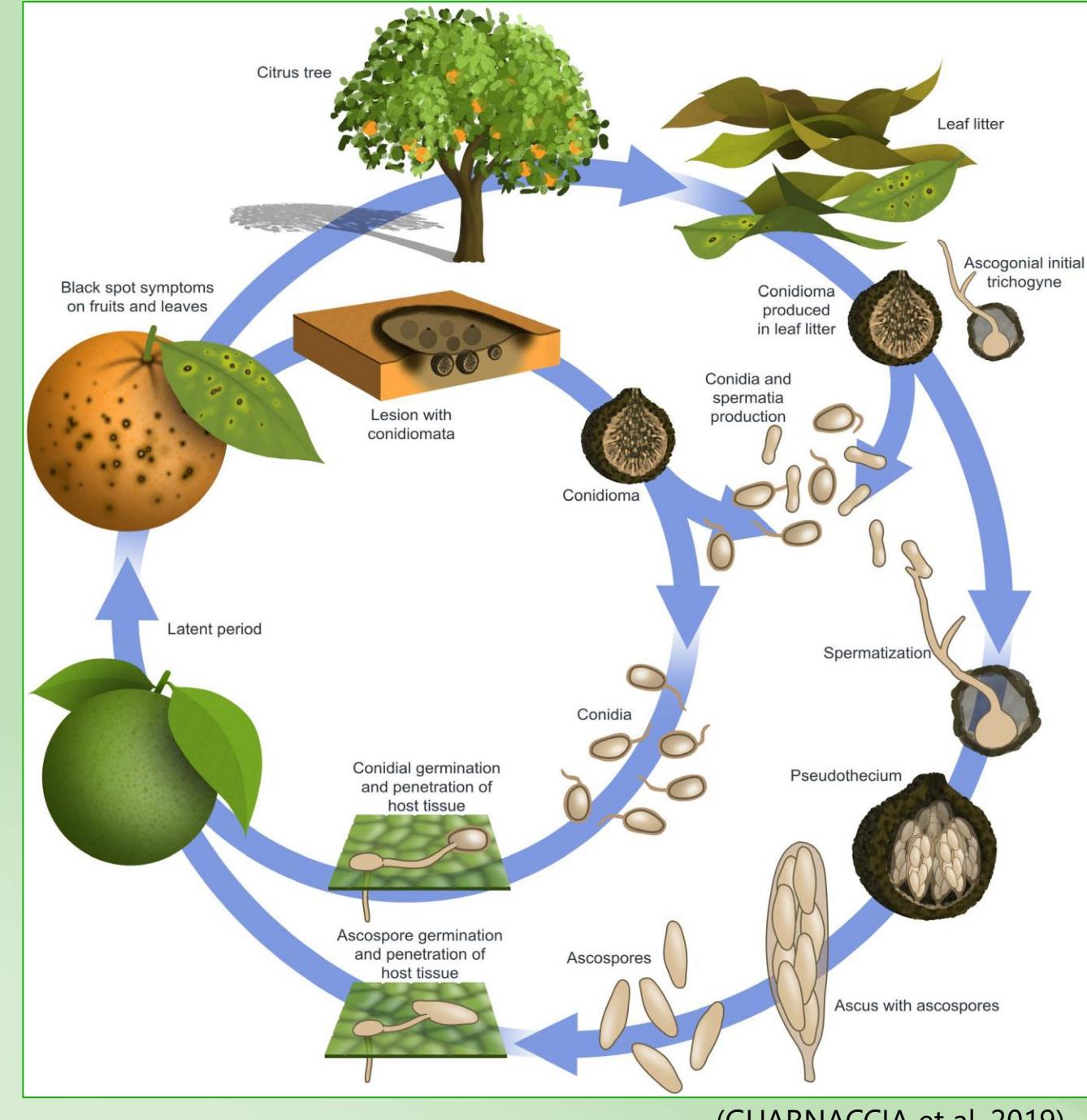
**Falsa melanose**



(KOTZÉ, 1981; FUNDECITRUS, 2013.)

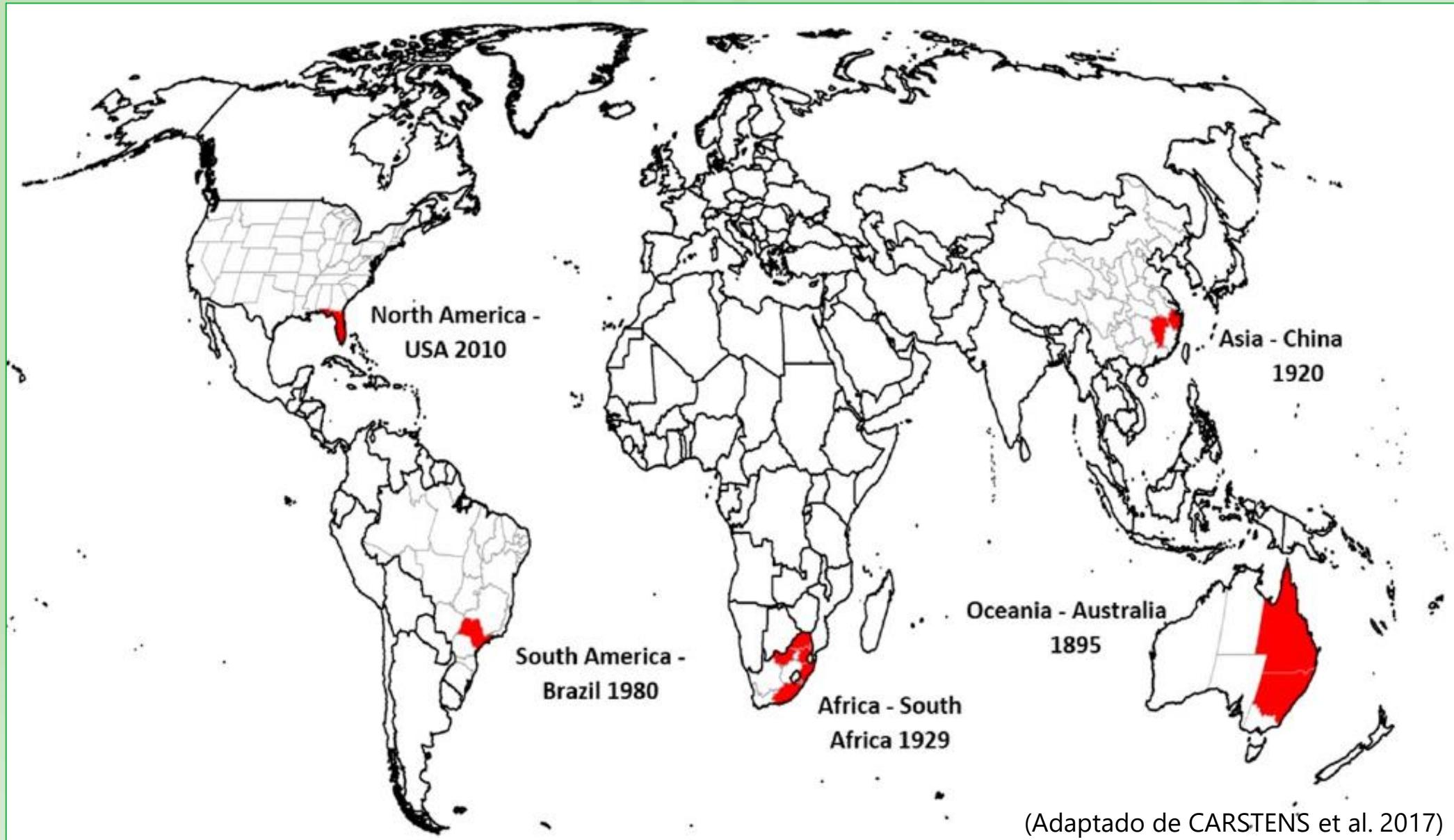
# Mancha Preta dos Citros (MPC)

## *Phyllosticta citricarpa*



- **Ascósporos:** dispersão em longas distâncias (vento)
- **Picnidiósporos:** dispersão em curtas distâncias (chuva)

# Distribuição geográfica de *P. citricarpa*



# Distribuição geográfica de *P. citricarpa*

available online at [www.studiesinmycology.org](http://www.studiesinmycology.org)

STUDIES IN MYCOLOGY 87: 161–185 (2017).



First report of *Phyllosticta citricarpa* and description of two new species, *P. paracapitalensis* and *P. paracitricarpa*, from citrus in Europe

V. Guarnaccia<sup>1\*</sup>, J.Z. Groenewald<sup>1</sup>, H. Li<sup>2</sup>, C. Glienke<sup>3</sup>, E. Carstens<sup>4,5</sup>, V. Hattingh<sup>4,6</sup>, P.H. Fourie<sup>4,5</sup>, and P.W. Crous<sup>1,7\*</sup>

- Isolados de *P. citricarpa* provenientes de folhiço (jardins em Portugal, Itália e Malta)
- Sintomas da MPC não foram observados
- *P. citricarpa* ainda considerada praga quarentenária A1 pela União Europeia

# *Phyllosticta* spp. em Citros - patógenos

Mancha Preta dos Citros



*P. citricarpa*  
(Heterotálica)



*P. paracitricarpa*  
(Heterotálica)

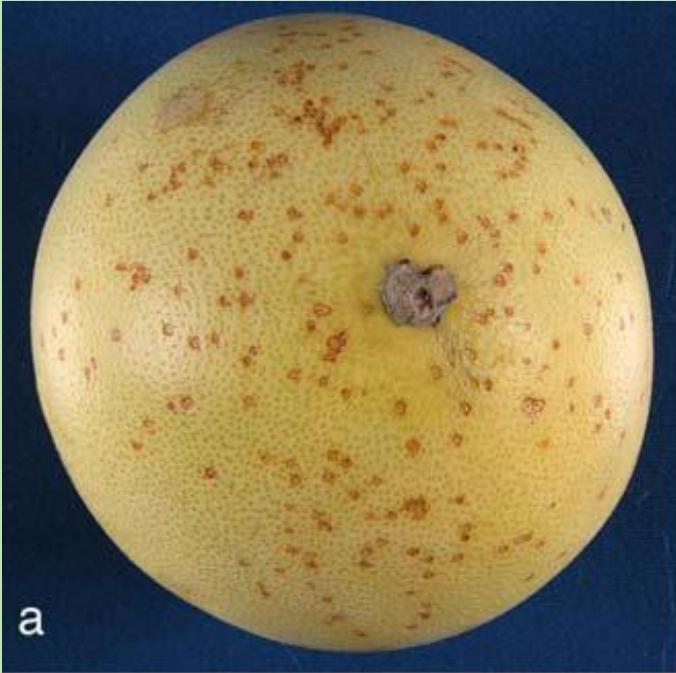
Mancha sardenta



*P. citrichinaensis*  
(Homotálica)

# *Phyllosticta* spp. em Citros - patógenos

## Citrus Tan Spot



a



c

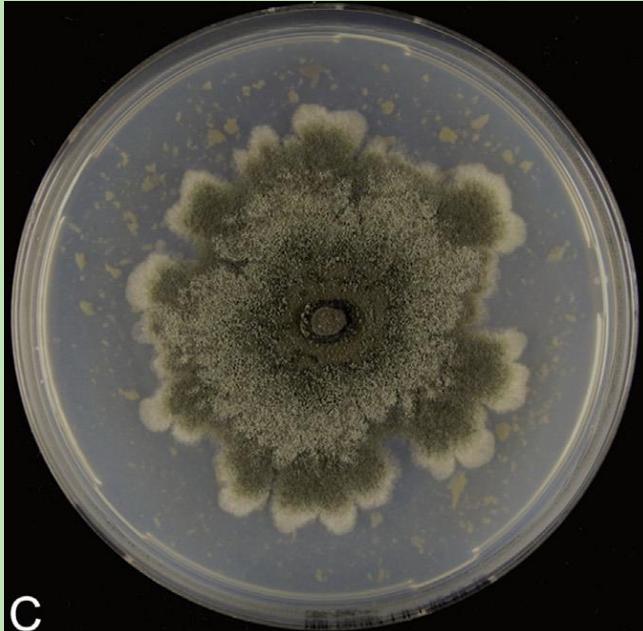
*P. citriasiana*  
(Heterotálica)

*P. citrimaxima*  
(Indeterminado, linhagens perdidas)

# *Phyllosticta* spp. em Citros - endófitos



**P. capitalensis**  
(Homo-tálica)



**P. paracapitalensis**  
(Homo-tálica)



**P. citribraziliensis**  
(Heterotálica)

(Adaptado de GLIENKE *et al.* 2011; GUARNACCIA *et al.* 2017)

# ***Phyllosticta* spp. em citros**

- Oito espécies de *Phyllosticta* associadas a citros
- Riqueza de espécies: maior no sul e sudeste asiático
- Altos níveis de diversidade genotípica observados para populações de *P. citricarpa* na China e na Austrália
- Ásia como centro de origem das espécies de *Citrus* e possível centro de origem das espécies de *Phyllosticta* associadas a citros

# Avanços nos estudos de *Phyllosticta*

## • Distribuição das espécies

available online at [www.studiesinmycology.org](http://www.studiesinmycology.org) STUDIES IN MYCOLOGY 87: 161–185 (2017).

 First report of *Phyllosticta citricarpa* and description of two new species, *P. paracapitalensis* and *P. paracitricarpa*, from citrus in Europe

V. Guarnaccia<sup>1\*</sup>, J.Z. Groenewald<sup>1</sup>, H. Li<sup>2</sup>, C. Glienke<sup>3</sup>, E. Carstens<sup>4,5</sup>, V. Hattingh<sup>4,6</sup>, P.H. Fourie<sup>4,5</sup>, and P.W. Crous<sup>1,7\*</sup>  
Fungal Diversity (2012) 50:173–187  
 available online at [www.studiesinmycology.org](http://www.studiesinmycology.org) Nan ZHOU<sup>a,b</sup>, Qian CHEN<sup>a</sup>, George CARROLL<sup>c</sup>, Ning ZHANG<sup>a</sup>, Roger G. SHIVAS<sup>e</sup>, Lei CAI<sup>a,\*</sup>

 A phylogenetic re-evaluation of *Phyllosticta* (*Botryosphaeriales*)

S. Wikee<sup>1,2</sup>, L. Lombard<sup>3</sup>, C. Nakashima<sup>4</sup>, K. Motohashi<sup>5</sup>, E. Chukeatirote<sup>1,2</sup>, R. Cheewangkoon<sup>6</sup>, E.H.C. McKenzie<sup>7</sup>, K.D. Hyde<sup>1,2\*</sup>, and P.W. Crous<sup>3,8,9</sup>

# Avanços nos estudos de *P. citricarpa*

- Estrutura populacional

Population Biology      e-Xtra\*

A Global Perspective on the Population Structure and Reproductive System of *Phyllosticta citricarpa*

E. Carstens, C. C. Linde, R. Slabbert, A. K. Miles, N. J. Donovan, H. Li, K. Zhang, M. M. Dewdney, J. A. Rollins, C. Glienke, G. C. Schutte, P. H. Fourie, and A. McLeod

available online at [www.studiesinmycology.org](http://www.studiesinmycology.org)

STUDIES IN MYCOLOGY 87: 161–185 (2017).



First report of *Phyllosticta citricarpa* and description of two new species, *P. paracapitalensis* and *P. paracitricarpa*, from citrus in Europe

V. Guarnaccia<sup>1\*</sup>, J.Z. Groenewald<sup>1</sup>, H. Li<sup>2</sup>, C. Glienke<sup>3</sup>, E. Carstens<sup>4,5</sup>, V. Hattingh<sup>4,6</sup>, P.H. Fourie<sup>4,5</sup>, and P.W. Crous<sup>1,7\*</sup>

# Avanços nos estudos de *P. citricarpa*

- Sistema de reprodução sexuada

***MAT* gene idiomorphs suggest a heterothallic sexual cycle in the citrus pathogen *Phyllosticta citricarpa***

Renata Amorim • Daiani Cristina Savi • Lisandra Ferreira-Maba • Rodrigo Aluizio •  
Eduardo Henrique Goulin • Marco Aurélio Takita • Marcos Antonio Machado •  
Chirlei Glienke

Ecology and Epidemiology

e-Xtra\*

**Mating Type and Simple Sequence Repeat Markers Indicate a Clonal Population of *Phyllosticta citricarpa* in Florida**

Nan-Yi Wang, Ke Zhang, Jose C. Huguet-Tapia, Jeffrey A. Rollins, and Megan M. Dewdney

# Avanços nos estudos de *P. citricarpa*

## • Epidemiologia

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Crop Protection

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/cropro](http://www.elsevier.com/locate/cropro)

**CLIMEX modelling of the potential global distribution of the citrus black spot disease caused by *Guignardia citricarpa* and the risk posed to Europe**

Tania Yonow<sup>a</sup>, Vaughan Hattingh<sup>b,\*</sup>, Marelize de Villiers<sup>b</sup>

Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

SCIENCE @ DIRECT®

Crop Protection 24 (2005) 297–308

**The potential global geographical distribution of Citrus Black Spot caused by *Guignardia citricarpa* (Kiely): likelihood of disease establishment in the European Union**

Ida Paul<sup>a,\*</sup>, A.S. van Jaarsveld<sup>b</sup>, L. Korsten<sup>c</sup>, V. Hattingh<sup>d</sup>

# Avanços nos estudos de *P. citricarpa*

## • Abordagens funcionais

Contents lists available at ScienceDirect

**Journal of Microbiological Methods**

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/jmicmeth](http://www.elsevier.com/locate/jmicmeth)



*Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of *Guignardia citricarpa*

J.G. Figueiredo <sup>a,1</sup>, E.H. Goulin <sup>a,2</sup>, F. Tanaka <sup>a,2</sup>, D. Stringari <sup>a,3</sup>, V. Kava-Cordeiro <sup>a,3</sup>, L.V. Galli-Terasawa <sup>a,4</sup>, C.C. Staats <sup>b,5</sup>, A. Schrank <sup>b,6</sup>, C. Glienke <sup>a,\*</sup>

Contents lists available at ScienceDirect

**Microbiological Research**

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/microc](http://www.elsevier.com/locate/microc)



Identification of genes associated with asexual reproduction in *Phyllosticta citricarpa* mutants obtained through *Agrobacterium tumefaciens* transformation

Eduardo Henrique Goulin <sup>a,1</sup>, Daiani Cristina Savi <sup>a,1</sup>, Desirrê Alexia Lourenço Petters <sup>a</sup>, Vanessa Kava <sup>a</sup>, Lygia Galli-Terasawa <sup>a</sup>, Geraldo José Silva Jr. <sup>b</sup>, Chirlei Glienke <sup>a,\*</sup>



# **Phyllosticta spp. em Citros - patógenos**

- Diferentes tipos de interação com o hospedeiro e modos de vida, diferenças na gama de hospedeiros
- Apesar de existem espécies patogênicas causando *Citrus Tan Spot*, apenas *P. citricarpa* descrita como agente causal da MPC
- Diferenças entre as espécies ainda não avaliadas sob uma perspectiva genômica e evolutiva
- Compreensão dos processos biológicos envolvidos com os diferentes tipos de associação que as espécies de *Phyllosticta* desenvolvem com seus hospedeiros

# Genômica comparativa

- Detecção de possíveis características espécie-específicas envolvidas com a adaptação aos hospedeiros
- Detecção de genes envolvidos na patogenicidade (ou no modo de vida endofítico)
- Base para abordagens funcionais que buscam entender a patogenicidade

ARTICLE

Received 21 Sep 2015 | Accepted 16 Mar 2016 | Published 6 May 2016

DOI: 10.1038/ncomms11362

OPEN

# Survival trade-offs in plant roots during colonization by closely related beneficial and pathogenic fungi

Stéphane Hacquard<sup>1,\*</sup>, Barbara Kracher<sup>1,\*</sup>, Kei Hiruma<sup>1,†</sup>, Philipp C. Münch<sup>2,3,4</sup>, Ruben Garrido-Oter<sup>1,5,6</sup>, Michael R. Thon<sup>7</sup>, Aaron Weimann<sup>3,5</sup>, Ulrike Damm<sup>8,†</sup>, Jean-Félix Dallery<sup>9</sup>, Matthieu Hainaut<sup>10,11</sup>, Bernard Henrissat<sup>10,11,12</sup>, Olivier Lespinet<sup>13,14</sup>, Soledad Sacristán<sup>15</sup>, Emiel Ver Loren van Themaat<sup>1,†</sup>, Eric Kemen<sup>1,6</sup>, Alice C. McHardy<sup>3,5,6</sup>, Paul Schulze-Lefert<sup>1,6</sup> & Richard J. O'Connell<sup>1,9</sup>

- Sinais genômicos de transição evolutiva do modo de vida patogênico para o modo endofítico. Repertório mais restrito de efetores, expansão de famílias gênicas de metabólitos secundários, diminuição da ativação de genes de patogenicidade *in planta*

RESEARCH ARTICLE

# Rapidly Evolving Genes Are Key Players in Host Specialization and Virulence of the Fungal Wheat Pathogen *Zymoseptoria tritici* (*Mycosphaerella graminicola*)

Stephan Poppe, Lena Dorsheimer, Petra Happel, Eva Holtgrewe Stukenbrock\*<sup>†</sup>

Max Planck Research Group Fungal Biodiversity, Max Planck Institute for Terrestrial Microbiology, Marburg, Germany

- Genes candidatos sob seleção positiva: deleção de genes e ensaios *in planta* confirmaram o papel dos genes na virulência

# Objetivo geral

Identificar e compreender os processos evolutivos envolvidos na adaptação aos hospedeiros e características associadas à patogenicidade nas espécies de *Phyllosticta* associadas à citros por meio de genômica comparativa

# Metas – Perguntas a serem respondidas

- Como as estratégias de reprodução influenciam o modo de vida das espécies de *Phyllosticta* associadas a citros?
- Como os genomas estão estruturados? Que padrões e características são observados em termos de conteúdo?
- Há correspondência estrutural (sintenia) entre os genomas?
- Como a seleção natural moldou a estrutura e conteúdo dos genomas? Quais são os genes mais divergentes entre as espécies? Genes de patogenicidade sofrem seleção positiva?

# Metas – Perguntas a serem respondidas

- Há genes específicos em alguns dos genomas? Se sim, estes genes estão envolvidos em funções fisiológicas importantes, ou relacionados ao modo de vida endofítico/patogênico?
- Como a variação populacional em *P. citricarpa* está relacionada ao modo de vida patogênico? Há diferença na variação genética existente em genes envolvidos na patogenicidade se comparados ao restante do genoma?

# Genomas

- *Phyllosticta capitalensis* (endófita em *Citrus* diversos hospedeiros, patógeno em Orchidaceae)

Linhagem*	Hospedeiro	Origem geográfica	Montagem
<b>CBS 128856</b>	<i>Stanhopea</i> sp.	Brasil	Guarnaccia et al. 2019
CBS 111638	<i>Capsicum</i> sp.	República Dominicana	JGI, não publicado
CBS 117118	<i>Musa acuminata</i>	Indonésia	JGI, não publicado
CBS 123374	<i>Citrus aurantium</i>	Tailândia	JGI, não publicado
CBS 173.77	<i>Citrus aurantifolia</i>	Nova Zelândia	JGI, não publicado
CBS 356.52	<i>Ilex</i> sp.	Desconhecida	JGI, não publicado
Gm 33	<i>Citrus sinensis</i>	USA	Wang et al. 2016
LGMF01	<i>Citrus latifolia</i>	Brasil	<b>Petters-Vandresen et al. 2020</b>

\*Coleção – Linhagem-tipo indicada em **negrito** e sublinhado. Abreviação da coleção: CBS = Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht, Netherlands; LGMF = Laboratório de Bioprospecção e Genética Molecular de Microrganismos, Universidade Federal do Paraná, Paraná, Brazil;

# Genomas

- *Phyllosticta citriasiiana* (patogênica em *Citrus*, Citrus Tan Spot)

Linhagem*	Hospedeiro	Origem geográfica	Montagem
<b><u>CBS 120486</u></b>	<i>Citrus maxima</i>	Tailândia	Guarnaccia et al. 2019
CBS 120426	<i>Citrus maxima</i>	China	JGI, não publicado
CBS 123371	<i>Citrus maxima</i>	Vietnã	JGI, não publicado
CGMCC 3.14344	<i>Citrus</i> sp.	China	Wang et al. 2020

\*Coleção – Linhagem-tipo indicada em **negrito** e sublinhado. Abreviação da coleção: CBS = Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht, Netherlands; CGMCC = China General Microbiological Culture Collection Center, Chinese Academy of Sciences, Beijing, China;

# Genomas

- *Phyllosticta citribraziliensis* (endófita em citros)

Linhagem*	Hospedeiro	Origem geográfica	Montagem
<b><u>CBS 100098</u></b>	<i>Citrus</i> sp. (folha)	Brasil	Guarnaccia et al. 2019
LGMF08	<i>Citrus</i> sp. (folha)	Brasil	Petters-Vandresen et al. 2020

\*Coleção – Linhagem-tipo indicada em **negrito** e sublinhado. Abreviação da coleção: CBS = Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht, Netherlands; LGMF = Laboratório de Bioprospecção e Genética Molecular de Microrganismos, Universidade Federal do Paraná, Paraná, Brazil;

# Genomas

- *Phyllosticta citricarpa* (patogênica em citros – MPC)

Linhagem*	Hospedeiro	Origem geográfica	Montagem
<b>CBS 127454</b>	<i>Citrus limon</i>	Austrália	Guarnaccia et al. 2019
CBS 102373	<i>Citrus aurantium</i>	Brasil	JGI, não publicado
CBS 111.20	<i>Citrus</i> sp.	China, interceptada na Austrália	JGI, não publicado
CBS 122482	<i>Citrus sinensis</i>	Zimbábue	JGI, não publicado
CBS 122670	<i>Citrus sinensis</i>	África do Sul	JGI, não publicado
CBS 131864	<i>Citrus sinensis</i>	USA	JGI, não publicado

\*Coleção – Linhagem-tipo indicada em **negrito** e sublinhado. Abreviação da coleção: CBS = Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht, Netherlands;

# Genomas

- *Phyllosticta citricarpa* (patogênica em citros – MPC)

Linhagem*	Hospedeiro	Origem geográfica	Montagem
CBS 141352	<i>Citrus sinensis</i> (folhiço)	Portugal	JGI, não publicado
CPC 16586	<i>Citrus limon</i>	Argentina	JGI, não publicado
CPC 27913	<i>Citrus sinensis</i> (folhiço)	Malta	Guarnaccia et al. 2019
Gc12	<i>Citrus sinensis</i>	EUA	Wang et al. 2016
CGMCC314348	<i>Citrus</i> sp.	China	GenBank
LGMF06	<i>Citrus sinensis</i>	Brasil	Petters-Vandresen et al. 2020

\*Coleção – Linhagem-tipo indicada em **negrito** e sublinhado. Abreviação da coleção: CBS = Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht, Netherlands; CPC = Personal collection of Pedro W. Crous, kept at CBS; CGMCC = China General Microbiological Culture Collection Center, Chinese Academy of Sciences, Beijing, China; LGMF = Laboratório de Genética de Microrganismos, Universidade Federal do Paraná, Paraná, Brasil.

# Genomas

- *Phyllosticta citrichinaensis* (patogênica em *Citrus*, mancha sardenta)

Linhagem*	Hospedeiro	Origem geográfica	Montagem
<b><u>CBS 130529</u></b>	<i>Citrus maxima</i> (folha)	China	Guarnaccia et al. 2019
CBS 129764	<i>Citrus reticulata</i>	China	JGI, não publicado

\*Coleção – Linhagem-tipo indicada em **negrito** e sublinhado. Abreviação da coleção: CBS = Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht, Netherlands;

# Genomas

- *Phyllosticta paracitricarpa* (sintomas de MPC *in vitro*)

Linhagem*	Hospedeiro	Origem geográfica	Montagem
<b>CPC 27169</b>	<i>Citrus limon</i> (folhiço)	Grécia	Guarnaccia et al. 2019
CBS 141358	<i>Citrus limon</i> (folhiço)	Grécia	JGI, não publicado

\*Coleção – Linhagem-tipo indicada em **negrito** e sublinhado. Abreviação da coleção: CBS = Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht, Netherlands; CPC = Personal collection of Pedro W. Crous, kept at CBS;



# Montagem de genomas e avaliação de qualidade de montagens

- Novas montagens dos genomas de *P. capitalensis* LGMF01, *P. citribraziliensis* LGMF08 e *P. citricarpa* LGMF06
- SPAdes, filtragem de contigs inferiores a 500pb
- Avaliação de contiguidade: QUAST
- Avaliação de completude: BUSCO, com o conjunto de ortólogos de Dothideomycetes

# Anotação gênica

- Estratégia similar à “Fungal Genome Annotation Pipeline”:
  - **GeneMark-ES**: auto-treinamento para criar modelo para etapa *ab initio*
  - **HISAT2, BRAKER1 (GeneMark-ET e AUGUSTUS)**: predições baseadas em RNA-Seq (reads)
  - **Trinity e PASA**: montagem do transcriptoma e predição baseada em transcriptoma (transcritos)
  - **EvidenceModeler**: consenso entre técnicas e criação de modelos finais

# Anotação de TEs e sequências repetitivas

- **Pipeline REPET**
  - Biblioteca Repbase
  - **TEdenovo:** detecção de TEs e DNA repetitivo e criação de biblioteca inicial para cada espécie
  - **TEannot:** anotação do genoma com biblioteca do TEdenovo e classificação dos elementos em ordens e superfamílias com PASTEC, seguindo o sistema de Wicker et al. 2007.
- **The RIPper:** detecção de assinaturas de RIP ao longo dos genomas

# Como as estratégias de reprodução influenciam o modo de vida das espécies de *Phyllosticta* associadas a citros?



Contents lists available at ScienceDirect

## Fungal Genetics and Biology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/yfgbi](http://www.elsevier.com/locate/yfgbi)



# Mating-type locus rearrangements and shifts in thallism states in *Citrus*-associated *Phyllosticta* species



Desirrê Alexia Lourenço Petters-Vandresen<sup>a,c</sup>, Bruno Janoski Rossi<sup>a</sup>, Johannes Z. Groenewald<sup>e</sup>, Pedro W. Crous<sup>e</sup>, Marcos Antonio Machado<sup>b</sup>, Eva H. Stukenbrock<sup>c,d</sup>, Chirlei Glienke<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Laboratório de Bioprospecção e Genética Molecular de Microrganismos, Postgraduate Program in Genetics, Department of Genetics, Federal University of Paraná (UFPR), Centro Politécnico, Jardim das Américas, 81531-990 Curitiba, Paraná State, Brazil

<sup>b</sup> Centro de Citricultura APTA Citros Sylvio Moreira – IAC, Campinas, SP, Brazil

<sup>c</sup> Environmental Genomics, Max Planck Institute for Evolutionary Biology, Plön, Germany

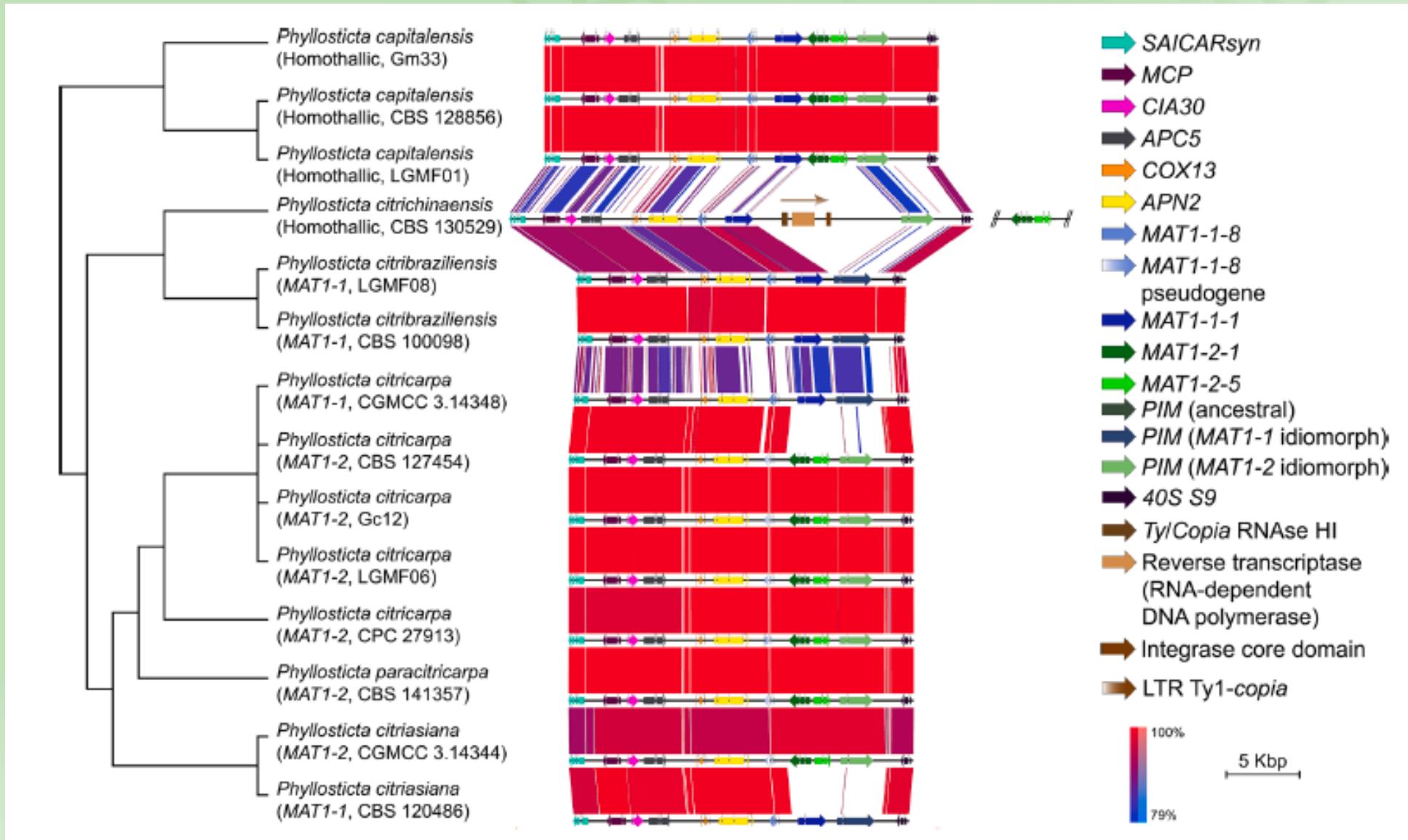
<sup>d</sup> Environmental Genomics, Christian-Albrechts University of Kiel, Kiel, Germany

<sup>e</sup> Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht, Netherlands

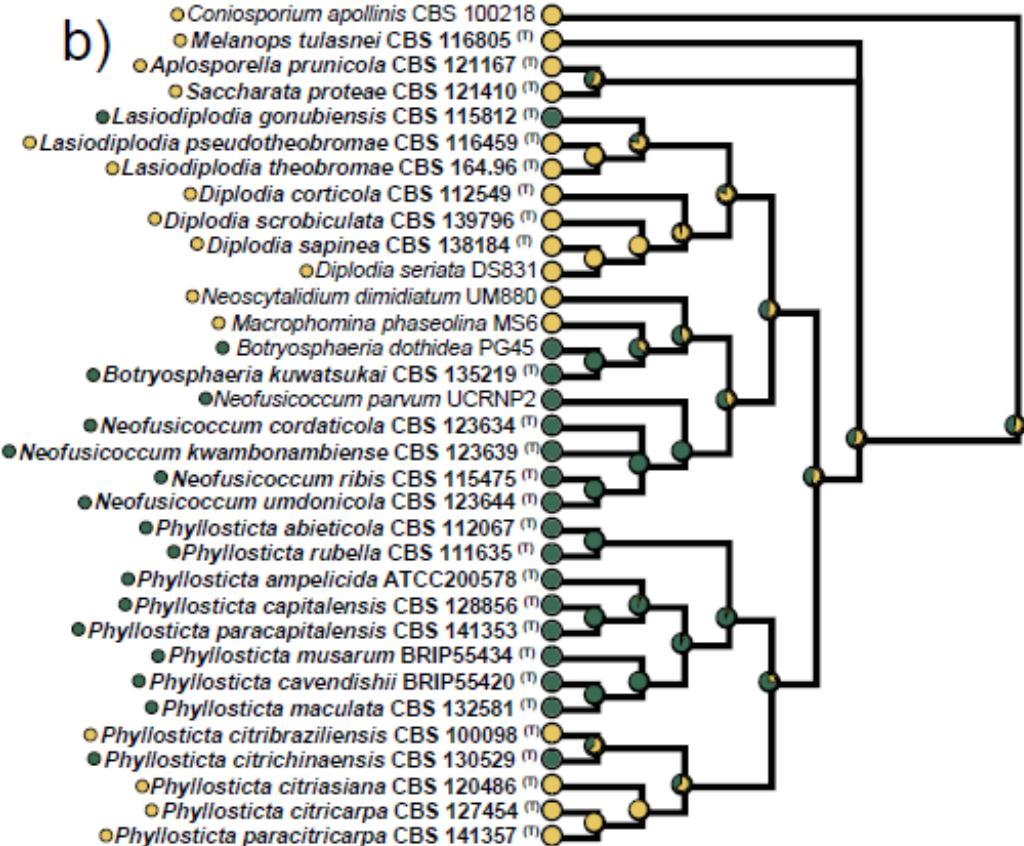
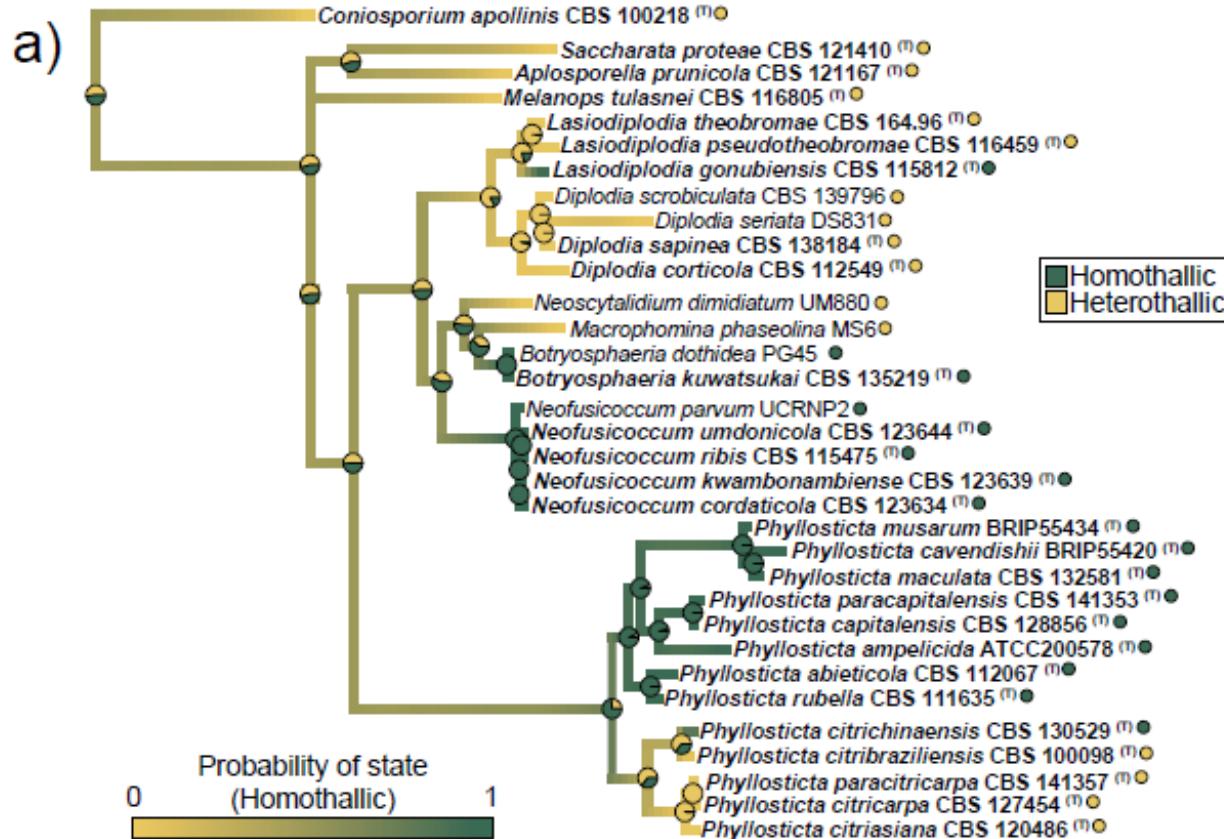
# Em *Phyllosticta*, algumas associações entre a reprodução e modo de vida...

Adaptado de:

PETTERS-VANDRESEN et al. 2020. *Fungal Genetics and Biology*. DOI: [10.1016/j.fgb.2020.103444](https://doi.org/10.1016/j.fgb.2020.103444)



# Em *Phyllosticta*, o ancestral é homotálico



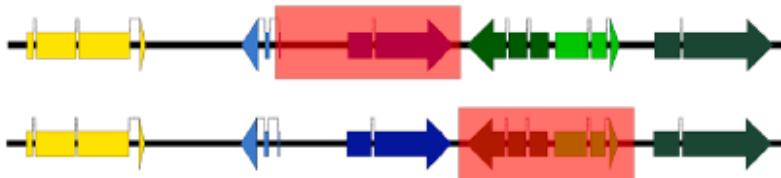
Adaptado de:

PETTERS-VANDRESEN et al. 2020. *Fungal Genetics and Biology*. DOI: 10.1016/j.fgb.2020.103444

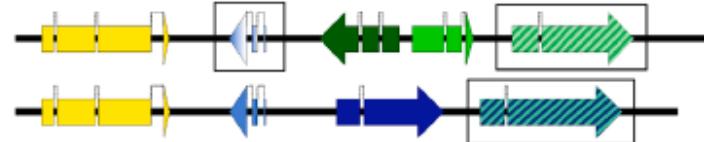
# TEs que escapam do sistema de defesa são capazes de causar mudanças significativas

## a) Homothallism shift to heterothallism

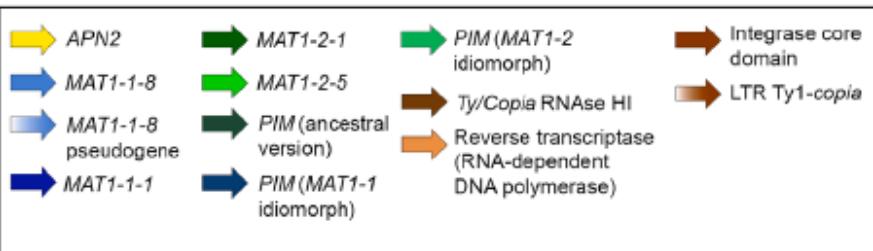
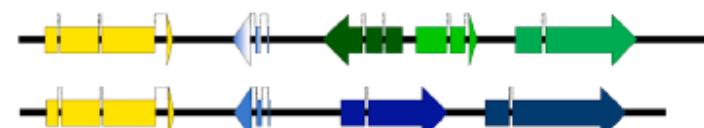
Step 01: Partial deletions of *MAT1-1* and *MAT1-2* idiomorphs in different strains, creating heterothallic strains



Step 02: Degeneration of *MAT1-1-8* in the *MAT1-2* strain and expansion of idiomorphic region to *PIM* in the *MAT1-1* strains

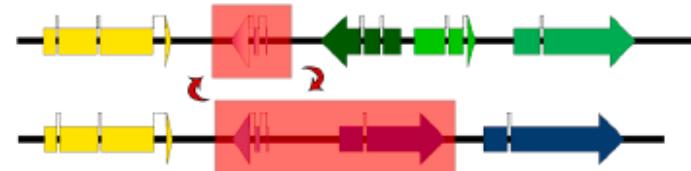


Outcome: Heterothallism in *P. citriodina*, *P. citribraziliensis*, *P. citricarpa* and *P. paracitricarpa*, with idiomorphic-specific versions of *PIM*

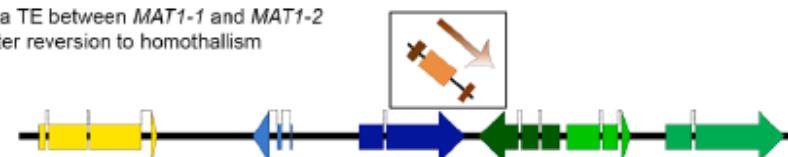


## b) Reversion to homothallism and TE-mediated remodelling in *P. citrichinaensis*

Step 01: Unequal recombination between the *MAT1-1-8* gene and *MAT1-1-8* pseudogene in *MAT1-1* and *MAT1-2* strains and reversion to homothallism

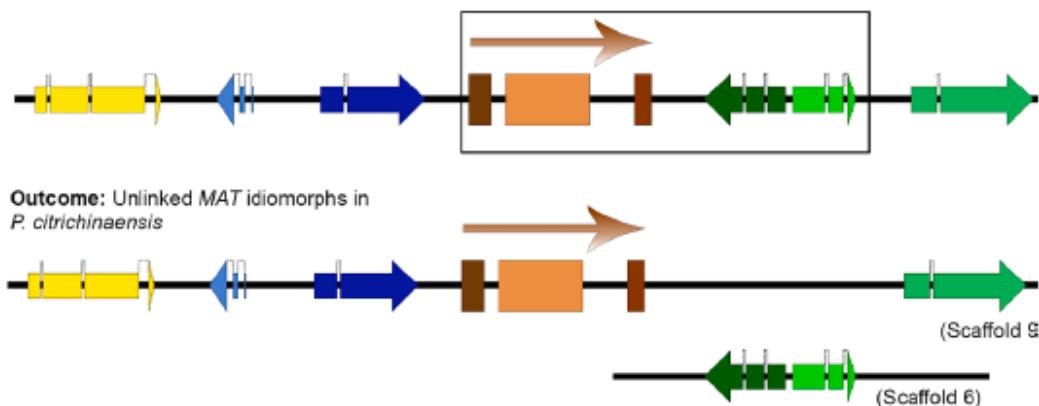


Step 02: Insertion of a TE between *MAT1-1* and *MAT1-2* idiomorphs after reversion to homothallism



Step 03: Mobilization of *MAT1-2* idiomorph either by:

- Recombination of the TE in mating-type locus with a TE in different genomic location
- Tranposition of the TE in the mating-type locus to a different genomic location



Adaptado de:

PETTERS-VANDRESEN et al. 2020. *Fungal Genetics and Biology*. DOI: [10.1016/j.fgb.2020.103444](https://doi.org/10.1016/j.fgb.2020.103444)

# Perspectivas futuras

- Estudos funcionais do locus de mating-type para melhor compreensão do processo de reprodução sexuada, produção de ascósporos e ensaios de patogenicidade com ascósporos
- Possíveis abordagens:
  - Deleção dos genes *MAT*
  - Deleção dos genes *MAT* e complementação com genes *MAT* de outra espécie
  - Transição entre heterotalismo e homotalismo com inserção de genes *MAT* em linhagens heterotálicas
  - Transição entre homotalismo e heterotalismo por deleção de um dos idiomorfos em *P. capitalensis*
  - Estudo de compatibilidade vegetativa

# Perspectivas futuras – TE no locus de mating-type de *P. citrichinaensis*

- Possivelmente um *LTR-Copia*, outras cópias presentes no genoma
- Similaridade moderada à sequência consenso: inserção não tão recente, mas também não tão antiga?
- Forte assinatura de RIP no elemento: sistema de defesa eficiente em *Phyllosticta*?

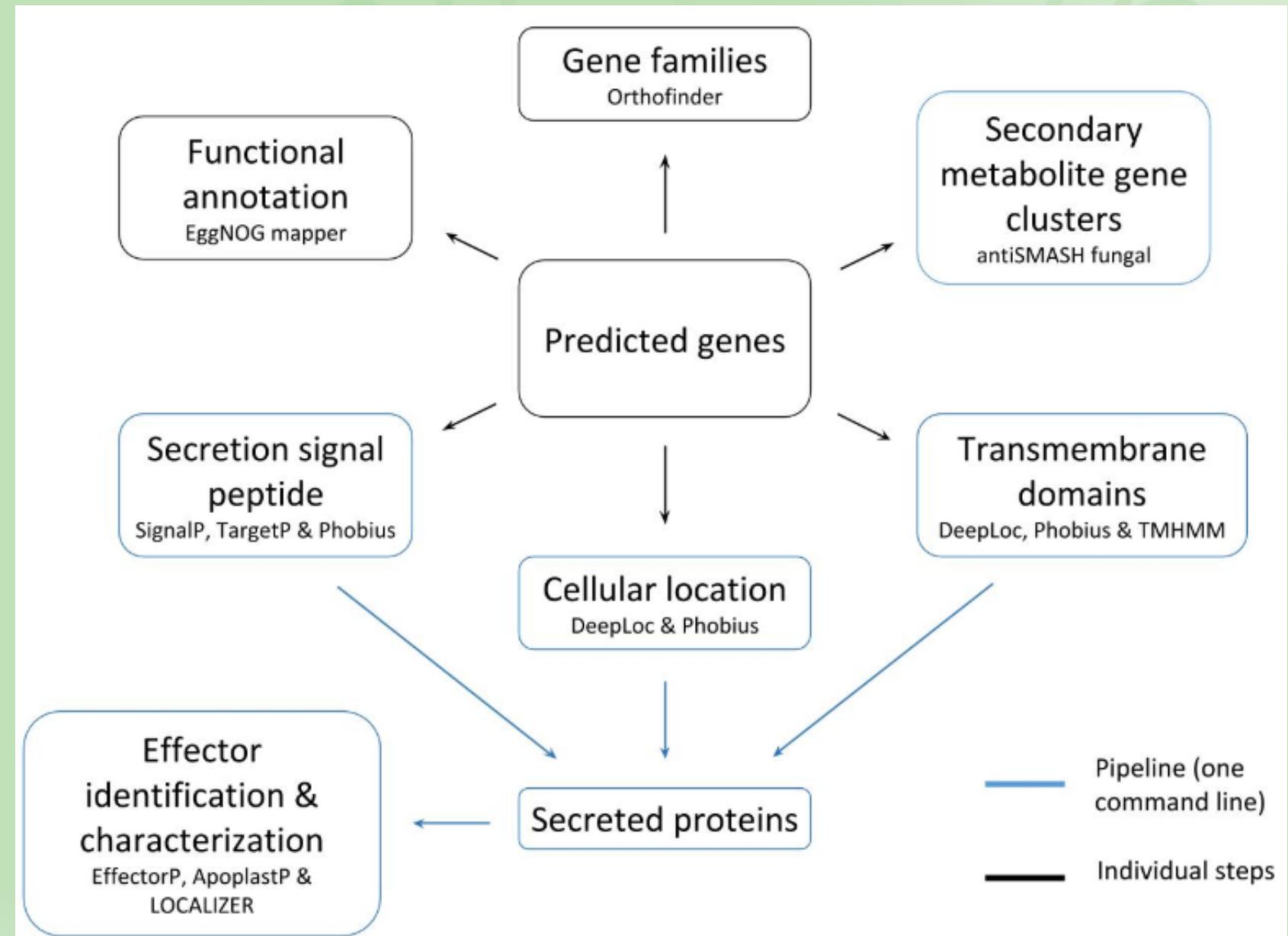
# **Como os genomas estão estruturados? Que padrões e características são observados em termos de conteúdo?**

**Há genes específicos em alguns dos genomas? Se sim, estes genes estão envolvidos em funções fisiológicas importantes, ou relacionados ao modo de vida endofítico/patogênico?**

- 1) Quão conservada é a arquitetura dos genomas?
- 2) Existem compartimentos nos genomas de *Phyllosticta*?
- 3) A variação na arquitetura está associada à variação no conteúdo gênico?

# Anotação funcional

- Pipeline com scripts personalizados para criar um consenso entre técnicas
- Detecção de:
  - Efetores
  - Clusters de genes de metabólitos secundários



# Anotação funcional - CAZymes

- Detecção de CAZymes com a plataforma dbCAN2
- CAZymes detectadas por 2 ou mais métodos

## Detecção de ortólogos

- PoFF (ProteinOrtho e sintenia):
  - *Melanops tulasnei* como outgroup
  - Tabelas avaliadas com scripts personalizados no R

# Circos plot

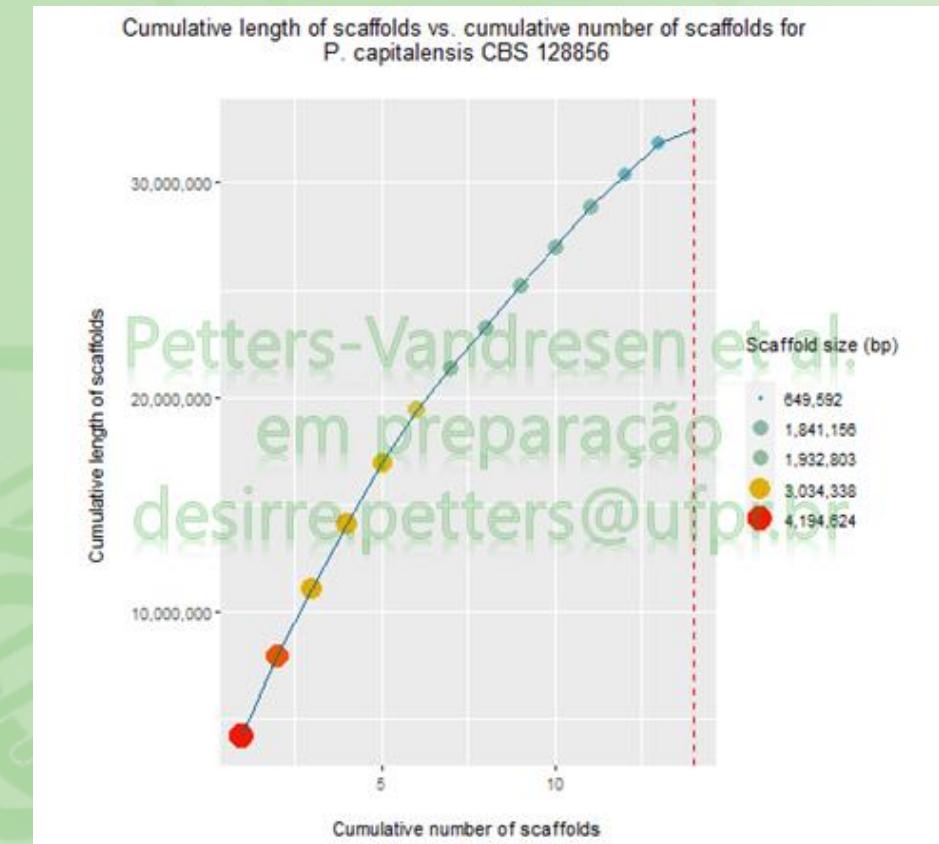
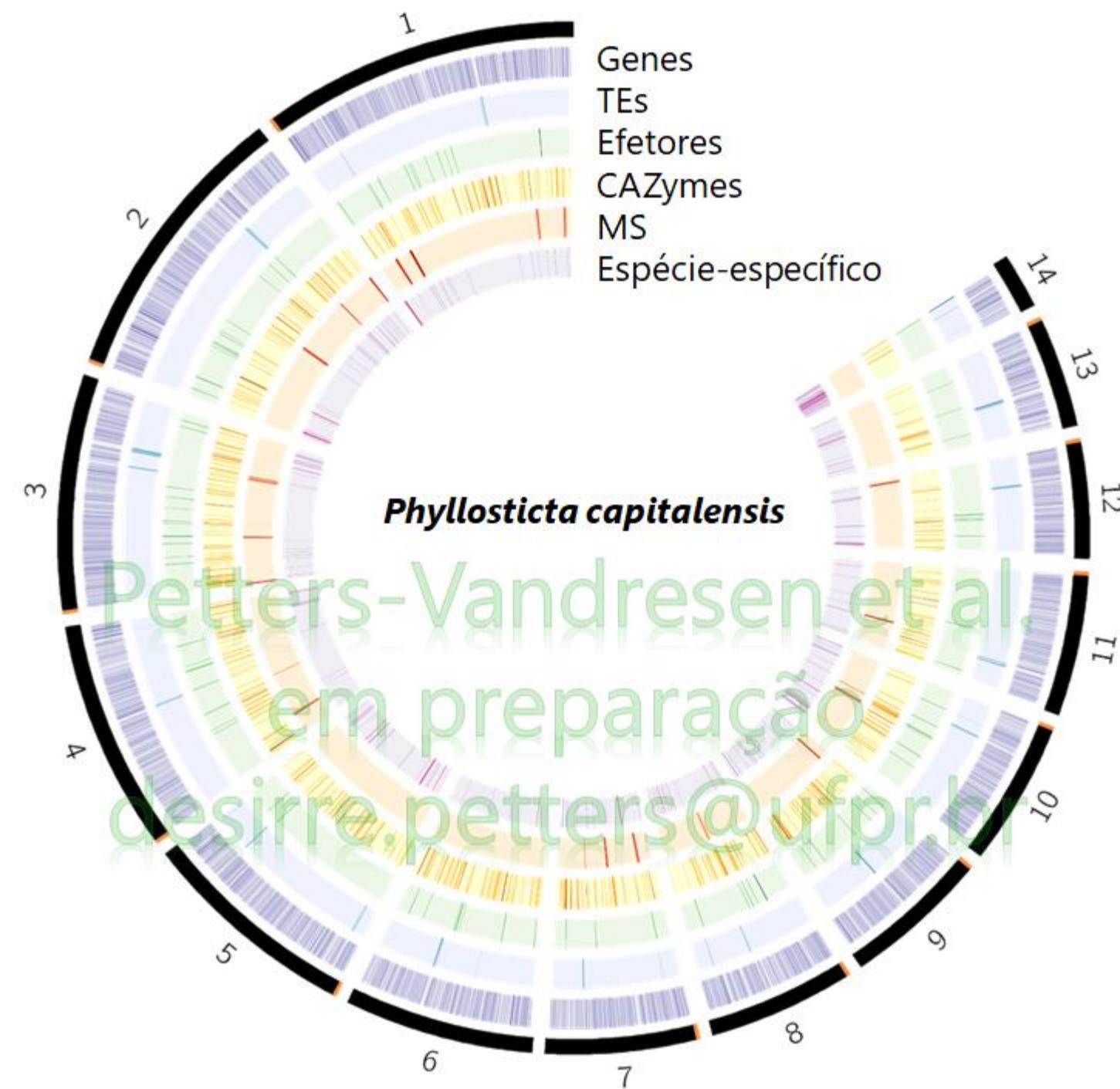
- Elaboração do script “**circosprep.sh**” para produção do plot com somente um comando
- Circos plots de densidades e sintenia com ortólogos
- Várias etapas de preparação dos dados:
  - Conversão de anotações de genes e TEs do formato GFF para BED
  - Criação de arquivo de “cariótipo”
  - Densidades de genes, TEs, efetores, CAZymes, clusters de genes de metabólitos secundários e genes específicos em janelas deslizantes de 10Kb
  - Combinação do arquivo de cariótipo com os arquivos de densidades

# Curvas cumulativas

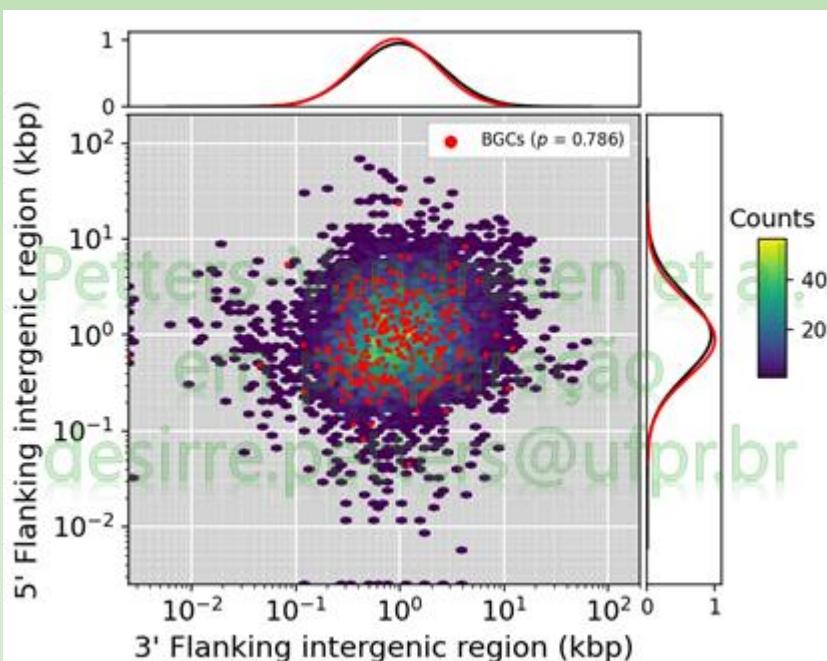
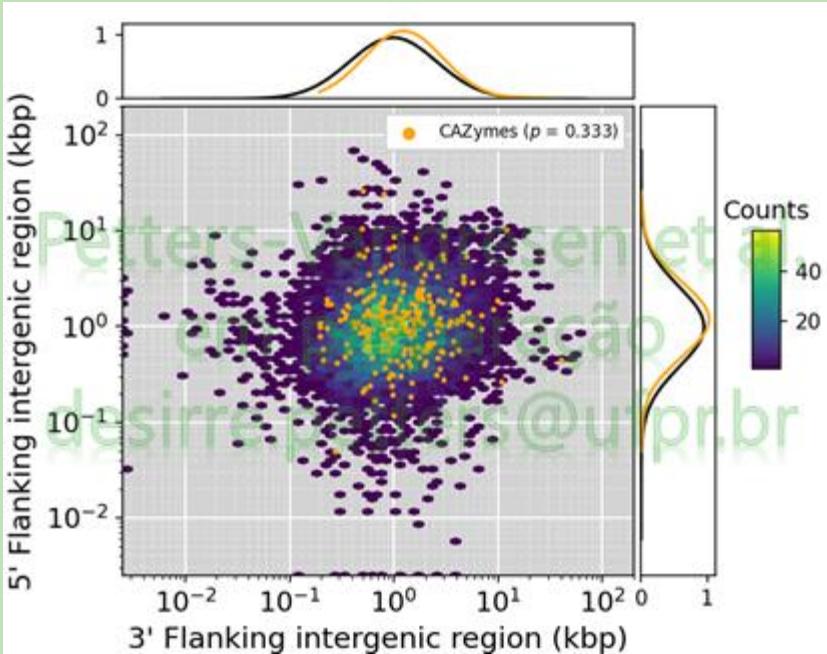
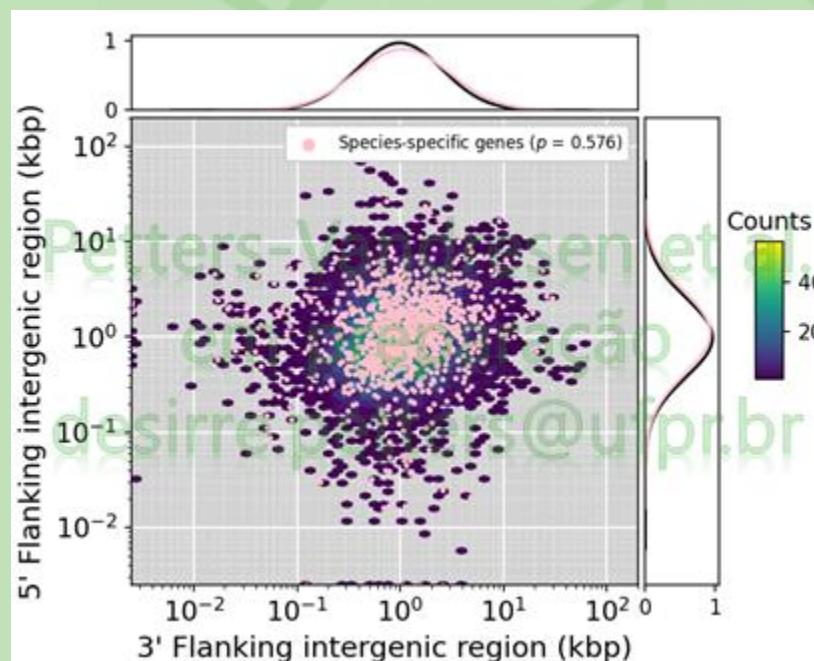
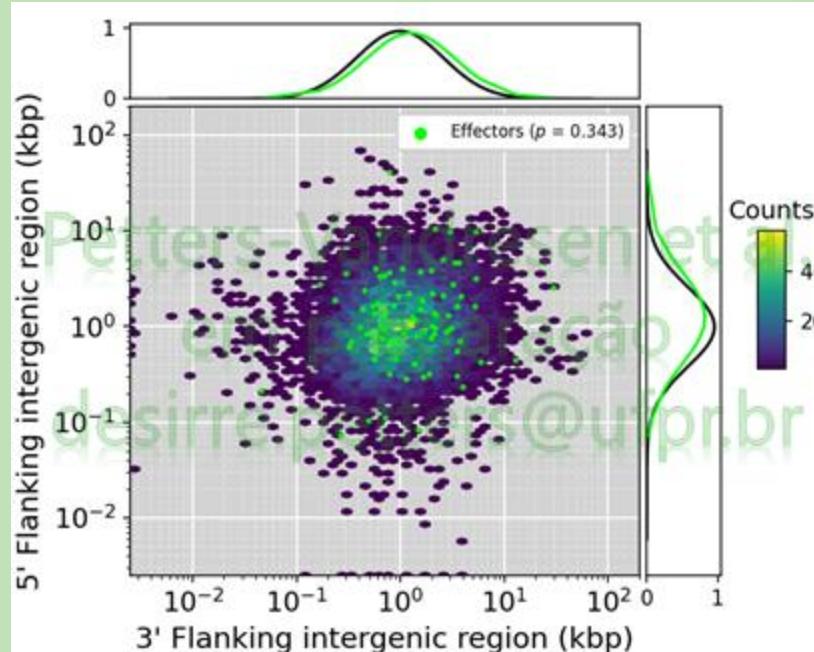
- Elaboração do script “**cumulativeLength.R**”
  - Curvas cumulativas dos contigs ordenados por tamanho
  - Definição de valores de corte para remover contigs muito pequenos do Circos plot
  - Script permite definir se os contigs removidos representam uma porção significativa do genoma

# Compartimentalização do genoma

- Uso do script “**genome\_speed\_hexbins.py**” para avaliar a existência de compartimentos no genoma
- Teste de compartimentalização para
  - Genoma total
  - Efetores
  - CAZymes
  - Genes de metabólitos secundários
  - Genes específicos



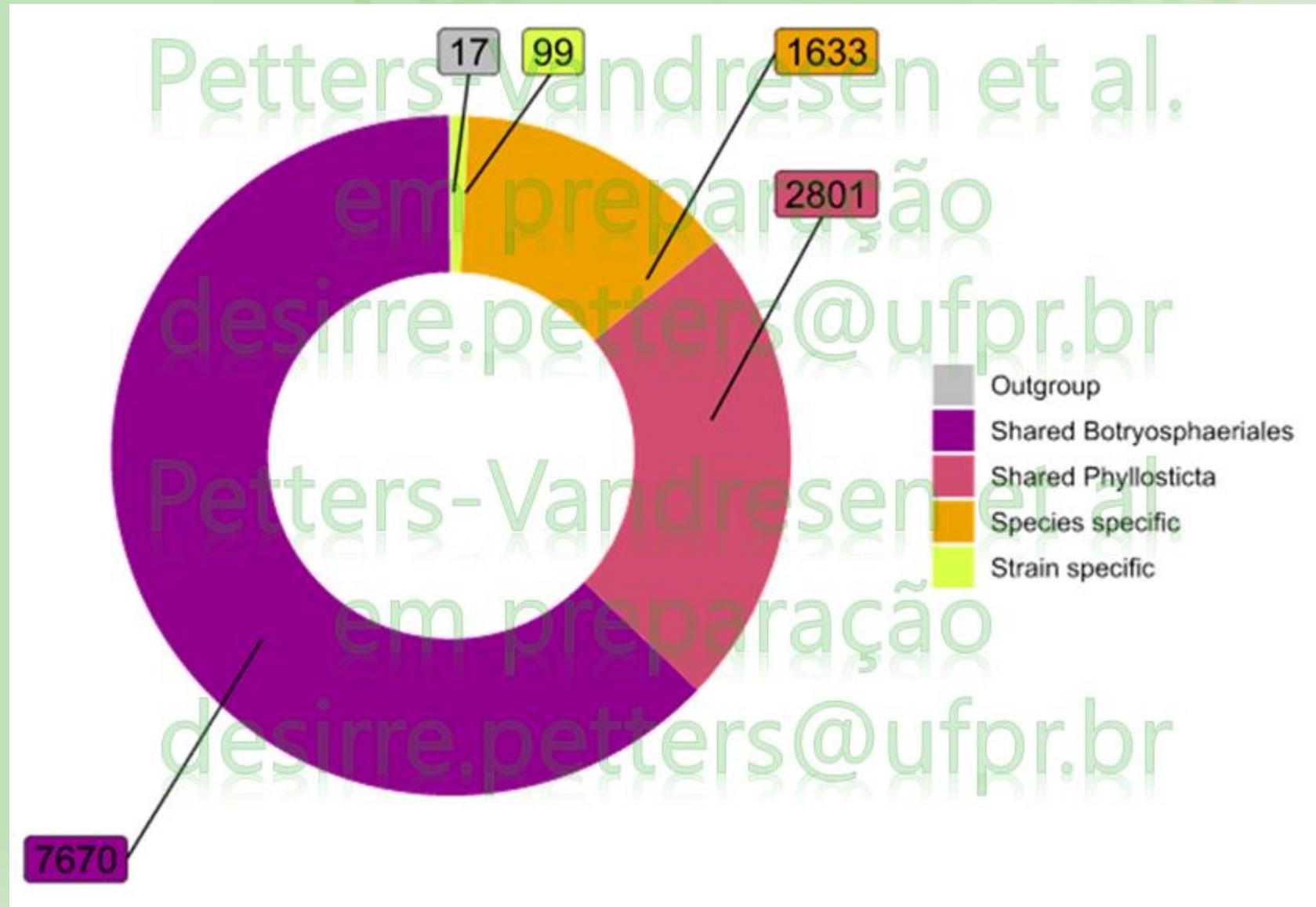
- Não há diferenças significativas entre as distâncias interagências para CAZymes, efetores, clusters de MS e genes espécie-específicos comparados ao restante dos genes no genoma



# Quão conservada é a arquitetura dos genomas? Existem compartimentos nos genomas de *Phyllosticta*?

- Arquitetura similar entre as espécies, genoma homogêneo
- Não há evidências de compartmentalização nos genomas de *Phyllosticta*
- Genes, TEs, efetores, CAZymes, clusters de MS e genes específicos para as espécies estão dispersos ao longo do genoma
- Distâncias entre genes são similares considerando ou não categorias funcionais

# Ortólogos



# Ortólogos



# Efetores



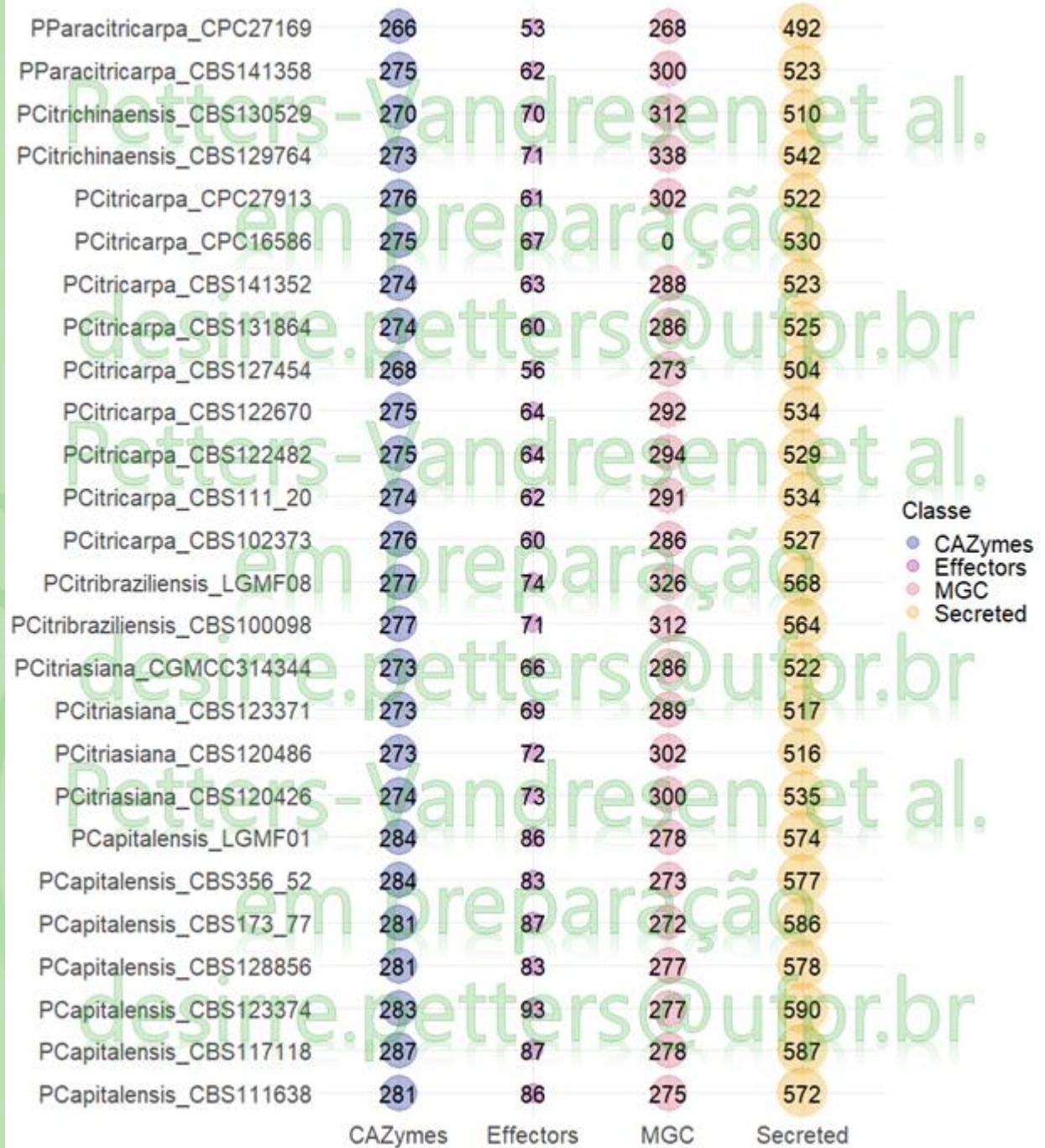
# CAZymes



# Clusters de MS



# Alta conservação de categorias funcionais relevantes para patogenicidade

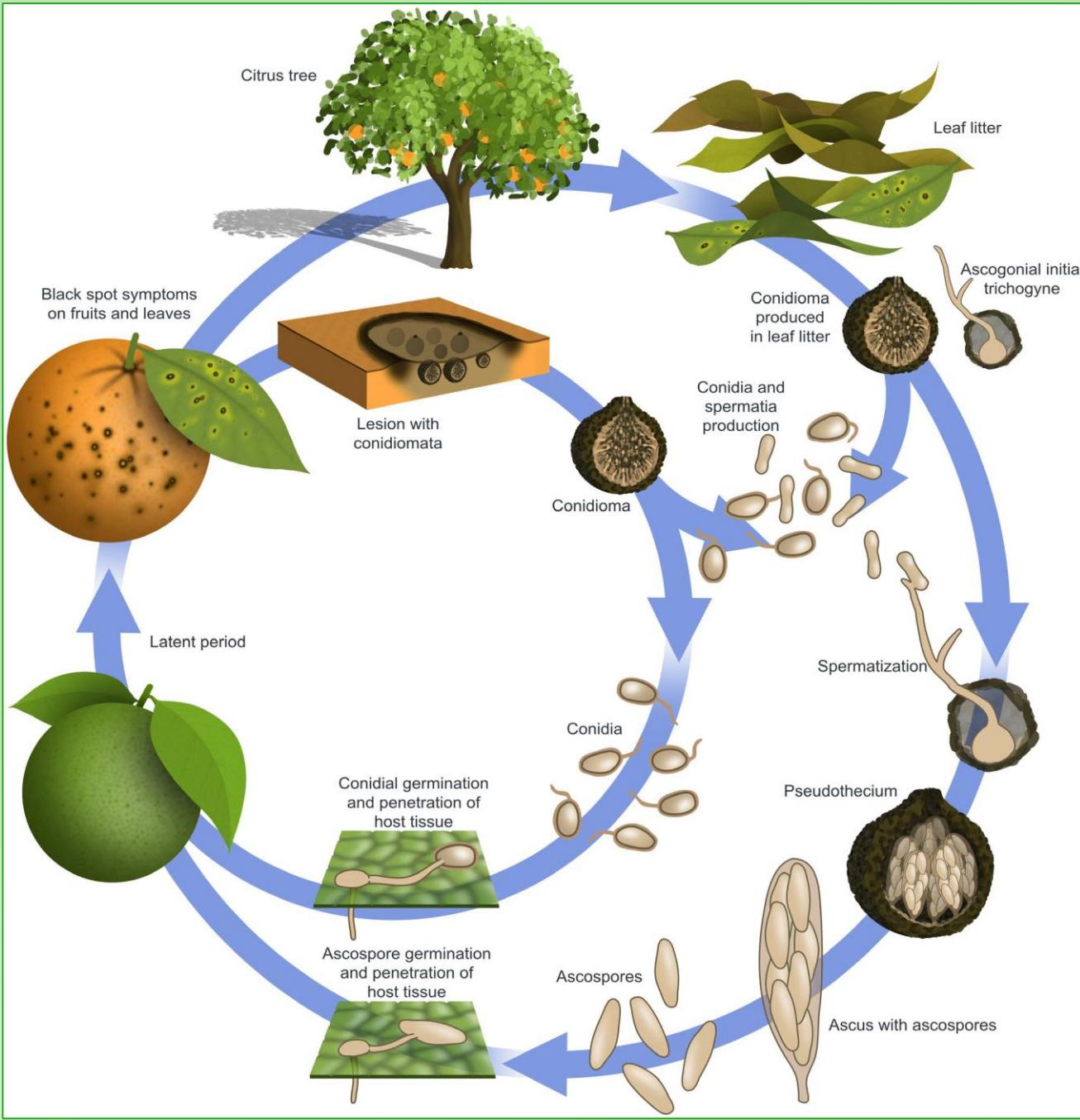


# A variação na arquitetura está associada à variação no conteúdo gênico?

- Arquitetura homogênea e conteúdo relativamente homogêneo
- Maior parte dos genes é compartilhada, inclusive considerando categorias funcionais
- Diferenças pontuais explicariam a variação no modo de vida e “**patogenicidade**”?

- Patógenos de hospedeiros de ciclo longo apresentam histórias evolutivas distintas em relação aos patógenos de hospedeiros de ciclo curto
  - Compartimentalização não é uma tendência universal
  - As estratégias de adaptação são muito diversas
- *Phyllosticta* é mais um dos exemplos que reforçam a necessidade de revisão de modelos de compartimentalização

- Patógenos de árvores: interação com o hospedeiro com menos pressão para variação, evolução mais lenta
- Tendências similares em outros patógenos de árvores da ordem Botryosphaerales
- Muitos são patógenos latentes e os sintomas/doença diferem muito das doenças causadas por patógenos de hospedeiros anuais
- Sintomas simples explicados por variações pontuais e evolutivamente não tão danosos à planta?



# “Patógeno?”



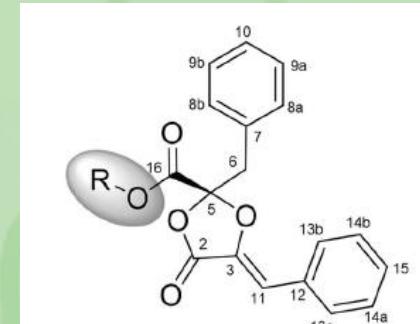
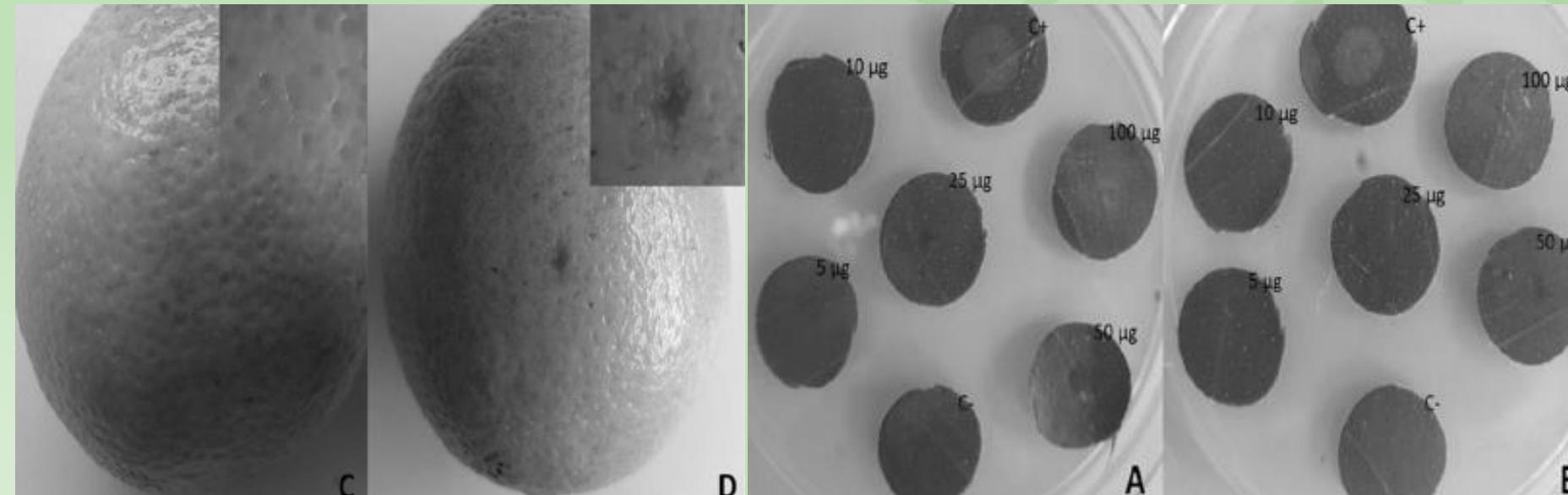
(KOTZÉ, 1981; FUNDECITRUS, 2013.)

BRIEF COMMUNICATION



## Secondary metabolites produced by the citrus phytopathogen *Phyllosticta citricarpa*

Daiani C. Savi<sup>1,2</sup> · Khaled A. Shaaban<sup>2,3</sup> · Prithiba Mitra<sup>2</sup> · Larissa V. Ponomareva<sup>2,3</sup> · Jon S. Thorson<sup>2,3</sup> · Chirlei Glienke<sup>1</sup> · Jürgen Rohr<sup>2</sup>



1a: R=CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>; Phenguignardic acid butyl ester  
1b: R=CH<sub>3</sub>; Phenguignardic acid methyl ester  
1c: R=H; Phenguignardic acid