

**GA**

**GENÉTICA, EVOLUÇÃO E MELHORAMENTO  
ANIMAL**



## DNA *barcoding* revela novo registro de roedor Echimyidae para a Floresta Atlântica do Nordeste

Santos, TC<sup>1</sup>; Carvalho-Neto, FG<sup>2</sup>; Santos, N<sup>2</sup>; Montes, MA<sup>1</sup>; Garcia, ACL<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Recife, PE; <sup>2</sup>Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, PE; <sup>3</sup>Centro Acadêmico de Vitória, CAV-UFPE, Vitória de S. Antão, PE

dossantos.t.c@gmail.com

**Palavras-chave:** COI, mtDNA, rodentia

A genética molecular é uma ferramenta de grande importância para a ciência moderna, sendo cada vez mais aplicada na resolução de incertezas taxonômicas. Neste tipo de análise os marcadores moleculares ganharam evidência, entre eles o DNA *Barcoding* (código de barras genético). Os genes mitocondriais vêm destacando-se por apresentarem alta especificidade em nível de espécie. A ordem Rodentia apresenta numerosa variedade de espécies e representa um desafio para os taxonomistas clássicos que se baseiam em caracteres morfológicos para a sua identificação. Entre os roedores, um dos gêneros encontrados no Brasil é o *Phyllomys*, o qual compreende diversas espécies que habitam a Floresta Atlântica. Neste trabalho registramos, através de um marcador molecular, uma espécie deste gênero ainda não catalogada na porção norte deste bioma. A coleta do espécime foi feita em setembro de 2011 em um remanescente de Floresta Atlântica, o Refúgio Ecológico Charles Darwin, na cidade de Igarassu, estado de Pernambuco, na sub-região centro de endemismo Pernambuco. O DNA do animal foi extraído a partir de tecido da orelha e o gene *Citocromo c oxidase subunidade 1* (COI) foi amplificado via PCR, o produto dessa reação foi purificado e sequenciado. A qualidade do eletroferograma foi analisada com o programa Phed disponibilizado online pelo site do Laboratório de Biologia Molecular da Universidade de Brasília. Somente foi utilizada a região com valores iguais ou superiores a 40 na análise do programa Phed. Por meio da ferramenta BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) o fragmento de 544pb mostrou identidade com a espécie *Phyllomys lundi*, Leite 2003. O DNA *Barcoding* mostrou-se uma ótima ferramenta para identificação animal e com a diminuição dos custos de sequenciamento a tendência é o seu uso crescer. Até o momento, *Phyllomys lundi* havia sido registrada no estado de Minas Gerais e Rio de Janeiro e encontra-se na lista da IUCN (*International Union for Conservation of Nature*) como ameaçada de extinção o que respalda ainda mais a importância desse registro.

Suporte financeiro: CAPES, FACEPE

## Novas evidências dos mecanismos cromossômico-evolutivos ocorrentes em *Euchroma gigantea* (Coleoptera, Buprestidae)

Xavier, C<sup>1,2</sup>, Ribeiro, KCS<sup>2</sup>, Cabral-de-Mello, DC<sup>3</sup>, Moura, RC<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Programa de pós graduação em Genética, Recife -PE; <sup>2</sup>Universidade de Pernambuco (UPE), Laboratório de Biodiversidade e Genética de Insetos, Instituto de Ciências Biológicas, Recife-PE;

<sup>3</sup>Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências/IB, Departamento de Biologia, Rio Claro-SP

crislainexavier@hotmail.com

**Palavras-chave:** Besouro, Polimorfismo cariotípico, Citogenética molecular

O gênero *Euchroma* Solier, 1833 (Buprestidae, Coleptera) é monotípico para *E. gigantea*. Contudo, seis variedades desta espécie foram listadas para a região Neotropical e seis cariótipos foram descritos. Estudos citogenéticos em espécimes oriundos de São Paulo e Pernambuco revelaram um grande polimorfismo cromossômico em *E. gigantea*, que possui variação cariotípica com número diploide de  $2n = 24$  a  $2n = 36$ , sistema sexual múltiplo  $X_1X_2X_3Y_1Y_2Y_3$  e presença de cromossomos supernumerários variando de cinco a 32. Neste trabalho foram analisados espécimes de *E. gigantea* oriundos de uma população de Maceió-AL, os quais foram cariotipados e analisados através de hibridização *in situ* fluorescente (FISH) com sonda de DNAr 18S. Foi observado um novo cariótipo com  $2n = 38$ ,  $X_1X_2X_3Y_1Y_2Y_3$ , com cromossomos acrocêntricos (14 pares autossômicos e o cromossomo  $Y_3$ ) e submetacêntricos (dois pares autossômicos e o  $X_1, X_2, X_3, Y_1, Y_2$ ), adicionalmente foram observados quatro diminutos cromossomos supernumerários. Quatro sinais de DNAr 18S foram observados neste cariótipo, localizados nos cromossomos  $X_1, X_2, Y_1$  e um cromossomo de um par autossômico. O grande polimorfismo cromossômico visto *E. gigantea* pode ser resultante da ocorrência de translocações A-sexuais que originaram a cadeia de sexuais e de inversões pericêntricas em autossomos. Além destes rearranjos a variação pode ser consequência de sucessivas fusões que reduziram o cariótipo de  $2n = 36$  para  $2n = 24$  ou sucessivas fissões que aumentaram o cariótipo de  $2n = 24$  para  $2n = 36$ . Apesar do polimorfismo observado, o mecanismo sexual múltiplo foi mantido, inclusive no novo cariótipo descrito aqui, indicando que este é antigo e bem conservado na espécie. O cariótipo  $2n = 38$  mais a presença da cadeia de sexuais reforça a possível ocorrência da variação a partir das translocações A-X e fusões A-A, visto que um cariótipo que possua mecanismo de determinação sexual múltiplo deve ter se originado de um ancestral com maior número de cromossomos e mecanismo sexual simples. Com relação ao número de sítios de DNAr 18S, a formação de um cromocentro envolvendo os cromossomos sexuais, bem como a frequente ocorrência de rearranjos cromossômicos podem ter favorecido a dispersão dessa sequência, que nos espécimes aqui analisados mostrou quatro sítios e em espécimes de Pernambuco com  $2n = 32$ , anteriormente analisados, mostrou dois sítios. O polimorfismo cromossômico em *E. gigantea* torna esta espécie modelo para evolução cariotípica, embora a ocorrência de variedades morfológicas indiquem a possível existência de mais de uma espécie no gênero até então considerado monotípico. Análises populacionais citogenéticas e moleculares estão sendo realizadas a fim de testar o *status* taxonômico da espécie e compreender os mecanismos citogenéticos envolvidos na sua evolução.

Apoio financeiro: CAPES e CNPq.

## Organização heterocromática em quatro espécies de gafanhotos da família Acrididae provenientes do Estado do Pará - Brasil.

Oliveira, E.F.A.S<sup>1,2</sup>; Loreto, V<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Saúde de Paulista, Paulista, PE; <sup>2</sup>Laboratório de Genética e Citogenética Animal, Departamento de Genética, CCB, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE

elizabeth.marques28@gmail.com

**Palavras-chave:** bandeamento C; heterocromatina; cromossomo; acrididae; orthoptera

A heterocromatina constitutiva (HC) corresponde a porções de cromatina que apresenta-se condensada durante todo o ciclo celular e são compostas por sequências de DNA repetitivo, possuem pouca ou nenhuma expressão gênica e auxiliam no controle da segregação dos centrômeros, dentre outras funções. Para os estudos citogenéticos, a análise da HC tem contribuído para a caracterização de espécies e análise de rearranjos cromossômicos. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo identificar as regiões de heterocromatina constitutiva em quatro diferentes espécies de gafanhotos da família Acrididae provenientes do Estado do Pará – Brasil. As preparações citológicas foram obtidas a partir de folículos testiculares de 4 indivíduos da espécie *Chloropseustes leucotylus* (subfamília Leptysminae), 5 de *Locheuma brunneri* (Ommatolampinae), 8 de *Schistocerca matogrosso* (Cyrtacanthacridinae) e 4 de *Vilerna aenoculata* (Ommatolampinae). Foi utilizada a técnica de esmagamento de folículos testiculares em uma gota de ácido acético 45% e as lamínulas foram retiradas em nitrogênio líquido. As lâminas foram submetidas ao bandeamento C sendo tratadas com HCl, hidróxido de bário e solução salina (SSC), e posteriormente, coradas com Giemsa. Os resultados encontrados foram distintos. A espécie *C. leucotylus* mostrou blocos pericentroméricos em todos os cromossomos. No par G3 desta espécie, foi verificado um bloco proximal adicional, maior do que o bloco pericentromérico. Na espécie *L. brunneri*, os blocos de HC visualizados são pericentroméricos e de pequeno tamanho. No par M5, foi verificado outro bloco adicional sendo este proximal, maior do que o bloco pericentromérico. Na espécie *S. matogrosso* todos os blocos verificados foram pericentroméricos, sem marcações adicionais. Finalmente em *V. aenoculata*, todos os blocos são pericentroméricos e terminais, exceto nos pares G1, G2, e P11 que possuem apenas o pericentromérico. O cromossomo X possui um bloco pericentromérico de maior tamanho em relação aos demais. A presença de blocos centroméricos é considerada a mais comum e conservada em espécies representantes da família Acrididae. Embora, as espécies estudadas neste trabalho apresentaram o padrão conservado é possível constatar que a presença de blocos adicionais em diferentes cromossomos permitiu que a localização de HC diferenciasse cada uma das espécies. Além disso, essa diferente organização de heterocromatina constitutiva das espécies deve estar relacionada a distintos processos de amplificação e manutenção dessas sequências no genoma delas.

Fonte financiadora: FACEPE, CNPq, FASUP

## Chromosomal evolution by single copy genes mapping using permanent non-fluorescent *in situ* hybridization (PISH) in five neotropical grasshoppers species (Acridomorpha)

Souza, TE<sup>1,2</sup>; Oliveira, DL<sup>1</sup>; Santos, JF<sup>1</sup>; Rieger, TT<sup>1</sup>; Moura, RC<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Experimentação em Drosophila, Departamento de Genética, Centro de Ciências Biológicas, UFPE, Recife, PE; <sup>2</sup>Laboratório de Biodiversidade e Genética de Insetos, Instituto de Ciências Biológicas, UPE, Recife, PE

tyago\_eufrasio@yahoo.com.br

**Keywords:** Chromosomal location; grasshoppers; *in situ* hybridization; PISH; single copy genes.

Insects respond to elevated temperature and to a variety of chemical and physical stresses by a rapid increase in the synthesis of a set of conserved polypeptides collectively referred to as heat shock proteins (Hsps). Lysozyme-like activity is especially important for immunity in Orthoptera. Ubiquitin is a small, highly conserved, regulatory protein that involved in processes of intracellular proteolytic degradation. The grasshoppers *Ommexecha virens* (Ommexechidae), *Xyleus discoideus angulatus*, *Tropidacris collaris* (Romaleidae), *Schistocerca pallens* (Acrididae) and *Stiphra robusta* (Proscopiidae) occur in the Northeast region of Brazil. Using PISH technique, the single copy genes *Hsp83*, *Hsp70*, *Hsp27*, *Ubi* and *Lys* position were mapped in meiotic chromosomes of *O. virens*, *X. d. angulatus*, *T. collaris* and *S. robusta*; and *Lys* in *S. pallens*. The meiotic chromosomes were obtained by the classical technique of testicular follicles crushing. The *Hsp83*, *Hsp70*, *Hsp27*, *Ubi* fragments were cloned from the *Drosophila melanogaster* genome using pBR322 plasmid and *Lysozyme* was cloned in Ylprd2-Lys plasmid from the human genome. The constructs were used as probes. The plasmids were extracted by alkaline lysis. After hybridization, the material was revealed using nitro-blue tetrazolium and 5-bromo-4-chloro-3-indolyphosphate. The preparations were counter-stained utilizing lacto-acetic orcein 1%. The slides were photographed using phase-contrast. The first four presents chromosome number  $2n = 23, XO$ , whereas *S. robusta* show  $2n = 19, XO$ . All these have chromosomes with prevalent acrocentric morphology, except *O. virens*, showing the L1 chromosome submetacentric. Among the genes used in this study, *Hsp27* presents most conserved chromosomal location in the all grasshoppers species. *Ubi* shows position more dispersed in the chromosomal complement. Comparing the chromosomal position of the genes mentioned above, we observe preferential location in L1 and L2 autosomal pairs; whereas multigene families genes as *rDNA 5S*, *rDNA 18S* and *H3 histone* tend present a location more reserved for medium and small chromosomal pairs in mentioned species. This is in clear contrast with single copy genes, which maintains its positions in the same chromosome along distant families. About the location of the genes mentioned above with same heat shock genes in *S. pallens* and *Period* in the species mentioned previously; they may also share chromosomal synteny, as demonstrated for *Drosophila* species. Chromosomal locations of single copy genes in grasshoppers families representatives provides relevant informations to the understanding of karyotypic evolution in these species.

Financial support: CNPq - CAPES

## Diversidade genética de duas populações de *Hippocampus reidi* (Ginsburg, 1933) na região Nordeste do Brasil

Neves, CHCB<sup>1</sup>; Cardoso, MLV<sup>2</sup>; Wanderley, TBO<sup>1</sup>; Garcia, ACL<sup>2</sup>; Montes, MA<sup>1</sup>; Silveira, RB<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Pernambuco, PE; <sup>2</sup>Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, UFPE-CAV, Pernambuco, PE; <sup>3</sup>Laboratório de Aquicultura Marinha, LABAQUAC, Ipojuca, PE  
*carloscampos.bn@hotmail.com*

**Palavras-chave:** Cavalo-Marinho, ISSR, Genética da Conservação, Variabilidade

Os cavalos-marinho são peixes ósseos da família Syngnathidae que ocorrem em águas litorâneas e estuarinas e se alimentam de pequenos crustáceos e lavas de peixes. Em geral são monogâmicos e os machos são responsáveis pela gestação da progênie. Uma característica importante desses animais é o mimetismo, que juntamente com a sua baixa mobilidade representam estratégias de defesa contra predadores. Duas populações de cavalos marinhos da espécie *Hippocampus reidi* localizadas na região Nordeste do Brasil enfrentam distintas situações. A população do estuário do rio Maracáipe (município de Ipojuca, estado de Pernambuco) vem sofrendo uma acelerada diminuição no tamanho populacional mediante as atividades antrópicas que causam sérios problemas para conservação dessa espécie. Este fato parece não está ocorrendo com a população de Mangue Seco, localizada no Parque Nacional de Jericoacoara (estado do Ceará). Neste trabalho, a fim de contribuir para a biologia da conservação de *H. reidi*, avaliamos a diversidade genética destas duas populações (intra e interpopulacional) através da metodologia de ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*). Este é um marcador estável e dominante que avalia a diversidade genética entre regiões de microssatélites. Para esta análise foram utilizados os *primers* ISSR1 ((CA)<sub>6</sub>AT) e ISSR 2 ((CA)<sub>6</sub>GC). Nossa amostra consistiu de 18 exemplares da população do rio Maracáipe (8°32'14,9"S; 35°00'17,8"W; Pernambuco) e 13 de Mangue Seco (2°50'21"S; 40°034'36"W, Ceará). Para a extração do DNA destes indivíduos foram retirados fragmentos da nadadeira dorsal, sem a necessidade do sacrifício dos cavalos-marinhos. Com os resultados da metodologia de ISSR/PCR, foi construída uma tabela binária, sendo atribuído (1) para presença e (0) para ausência de fragmentos amplificados. O programa Arlequin foi utilizado para a análise dos polimorfismos. Foram obtidos 44 *amplicons* (22 com ISSR1 e 22 com ISSR2). Todos os indivíduos estudados apresentaram uma combinação diferente de amplicons para os dois ISSR estudados. Foi observada menor diversidade genética na população de Ceará que apresentou 10 amplicons polimórficos em comparação com os 15 observados em Pernambuco. A avaliação da estruturação da diversidade genética revelou que 84,28% da variabilidade ocorrem dentro das populações e 15,72% entre as populações, o que evidencia um baixo nível de diferenciação entre as duas populações. Contudo, a referida conclusão será mais profundamente avaliada por meio do aumentando amostral de cada população para até 50 indivíduos e pela aplicação de outros dois ISSR que já apresentaram variabilidade.

## Relações evolutivas entre diferentes vertebrados a partir de alinhamentos comparativos de sequências de aminoácidos da proteína miogenina

Oliani, LC<sup>1</sup>; Lidani, KCF<sup>2</sup>; Gabriel, JE<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Vale do São Francisco UNIVASF, Petrolina, PE, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Federal do Paraná UFPR, Curitiba, PR, Brasil

*luisaoliani@gmail.com*

**Palavras-chave:** miogenina, biologia evolutiva, vertebrados, bioinformática

O fator transcricional miogenina caracteriza-se como um dos principais fatores de regulação da miogênese, estando sua expressão envolvida no término da proliferação celular dos mioblastos, marcando o início da diferenciação dos mioblastos em miócitos durante o desenvolvimento do tecido muscular esquelético. Assim, sua aumentada síntese desempenha um papel chave na histogênese dos tecidos musculares durante o desenvolvimento embrionário de vertebrados. Considerando a atuação crucial dos fatores regulatórios miogênicos para a homeostase celular, o presente estudo objetivou comparar múltiplas sequências de aminoácidos da proteína miogenina em distintos animais empregando ferramentas de bioinformática a fim de inferir evidências adicionais acerca das relações evolutivas em vertebrados. Nesse estudo sequências de aminoácidos da proteína miogenina pertencentes às seguintes espécies de animais: *Homo sapiens* (homem, P15173), *Mus musculus* (camundongo, P12979), *Bos taurus* (boi, Q7YS81), *Sus scrofa* (porco selvagem, P49812), *Coturnix coturnix* (codorna japonesa, P34060), *Gallus gallus* (galinha doméstica, P17920), *Rattus norvegicus* (rato, P20428), *Bubalus bubalis* (búfalo, A7L034) e *Ovis aries* (ovelha, D3YKV7) foram escolhidas a partir do banco de dados de anotação de sequências de proteínas denominado UniProtKB/Swiss-Prot. Em seguida, as sequências de aminoácidos selecionadas foram analisadas visando à construção de uma árvore descritiva de agrupamentos filogenéticos entre espécies de vertebrados empregando o método de Neighbor-Joining (NJ) e Kimura 2 parâmetros (programa MEGA 5.0). O dendograma, demonstrando as relações evolutivas entre distintos vertebrados inferidas a partir de alinhamentos de sequências de aminoácidos da proteína miogenina, destacou a presença de dois ramos principais, sendo um primeiro agrupamento constituído por sub-ramos contendo as espécies boi e búfalo (0.00), subsequentemente associadas com ovelha (0.03), homem (0.04), e porco (0.05), que por sua vez foram agrupadas com camundongo (0.13) e rato (0.21). Nesse mesmo dendograma observou-se a presença de um segundo agrupamento demonstrando a presença de um sub-ramo constituído exclusivamente pelas espécies ovíparas como galinha doméstica (0.24) e codorna (0.26). A partir dos alinhamentos das sequências de aminoácidos da proteína miogenina constatou-se que boi e búfalo foram as espécies menos diferenciadas em contraste com as espécies boi e galinha, que demonstraram maior diferenciação em comparação as demais espécies investigadas. De fato, sendo os animais selecionados pertencentes a categorias taxonômicas tão distintas, um baixo grau de conservação dessas sequências foi verificado em tais análises comparativas, registrando valor de identidade correspondente a 37,075%. Dessa forma, as descobertas descritas no presente estudo fornecem evidências relevantes sobre biologia evolutiva de vertebrados a partir de ferramentas de busca e alinhamento de sequências de aminoácidos da proteína miogenina.

## ESTRUTURA POPULACIONAL DE OVINOS SANTA INÊS VARIEDADE BRANCA CRIADOS NA ZONA DA MATA DE PERNAMBUCO

Nogueira, JF<sup>1</sup>; Nascimento, TEC<sup>1</sup>; Barros, EA<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Estudantes de graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal do Vale do São Francisco, UNIVASF, Petrolina, PE; <sup>2</sup>Docente Colegiado Acadêmico de Zootecnia, Universidade Federal do Vale do São Francisco, UNIVASF, Petrolina, PE

*joelfnogueira@hotmail.com*

**Palavras-chave:** parentesco, pedigree, endogamia, variabilidade genética, parentesco médio

No Brasil todas as raças de ovinos nativas foram formadas a partir do processo de adaptação e seleção natural de raças européias que foram trazidas para o país na época da colonização. Dentre as raças nativas exploradas atualmente, a raça Santa Inês vem ganhando destaque devido ao seu grande potencial produtivo e adaptativo. Considerando a importância genética que a raça Santa Inês representa, faz-se necessário considerar se a adoção de medidas voltadas para o alcance do progresso produtivo tem permitido também a manutenção da variabilidade genética da raça. Vários estudos por meio do uso de informações de pedigree vêm sendo realizados a fim de avaliar a estrutura das populações que, em última instância, geram informações referentes à forma como estas populações estão sendo exploradas geneticamente. O objetivo deste trabalho foi avaliar a estrutura populacional de ovinos da raça Santa Inês, variedade branca criados na cidade de Gravatá, no estado de Pernambuco. Foram utilizados dados de pedigree de 4216 animais, nascidos no período de 1982 a 2008. As estimativas dos parâmetros genéticos foi realizada utilizando o programa Endog v4.6. No estudo, verificou-se que, do total de animais avaliados, 48,06%, 29,22% e 7,43% possuíam informações genealógicas da primeira, segunda e terceira ascendência, respectivamente. A média do intervalo de gerações foi de 2,7 anos. O número efetivo de fundadores ( $f_e$ ) constituído de apenas 10 animais dos quais apenas 3 são responsáveis por 50% da variabilidade genética total. O coeficiente de parentesco médio foi de 0,30% e o de endogamia, de 0,05%. Observa-se baixa contribuição dos animais fundadores ao longo do tempo. Os baixos valores observados para os coeficientes de parentesco e endogamia podem ser atribuídos à ausência de estruturação da população e ao baixo número de reprodutores registrados. O uso de alguns animais de forma mais intensa contribuiu para a baixa representação dos animais fundadores no pedigree ao longo das gerações. No entanto, os valores de consanguinidade e parentesco médio indicam que essa pequena base genética não resultou em perda de variabilidade genética para o plantel com base nos registros analisados.

## Diagnóstico molecular da astenia cutânea em ovinos da raça White Dorper

Cunha, SMF<sup>1,5</sup>; Almeida, EM<sup>1,6</sup>; Nogueira, JF<sup>1</sup>; Souza Filho, JLP<sup>2</sup>; Menezes, DR<sup>3</sup>; Gouveia, GV<sup>4</sup>; Gouveia, JJS<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Estudante de Graduação em Medicina Veterinária, Univasf, Petrolina-PE; <sup>2</sup>Estudante de Graduação em Zootecnia, Univasf, Petrolina-PE; <sup>3</sup>Docente, Colegiado Acadêmico de Medicina Veterinária, Univasf, Petrolina-PE; <sup>4</sup>Docente, Colegiado Acadêmico de Zootecnia, Univasf, Petrolina-PE; <sup>5</sup>Participante do Programa Institucional de Voluntários de Iniciação Científica (PIVIC / Univasf); <sup>6</sup>Bolsista do Programa de Iniciação Tecnológica (PIBITI / CNPq / Univasf).

samlacunha@gmail.com

**Palavras-chave:** Doenças genéticas, *Ovis aries*, Síndrome de Ehlers-Danlos, PCR-RFLP, Ovinocultura

As doenças genéticas são fontes de prejuízos que podem chegar a milhões de dólares na pecuária mundial, apesar disso os estudos envolvendo a identificação destas patologias ainda são bastante escassos no Brasil. Em ovinos pelo menos 21 doenças genéticas monogênicas já foram descritas e tiveram a mutação causal identificada e, nos últimos anos, os avanços da genômica têm propiciado um panorama bastante propício para a identificação dos genes envolvidos com a manifestação destas doenças. A astenia cutânea, também conhecida como dermatosparaxia, ou síndrome de Ehlers-Danlos, é um conjunto de síndromes caracterizado por defeitos na produção de colágeno que, na espécie ovina, já foi descrita nas raças Border Leicester-Southdown, Romney e White Dorper. Os sinais clínicos da astenia cutânea incluem pele frágil, cicatrização retardada, formação de hematomas e higromas. Embora não se tenha uma estimativa da porcentagem de animais portadores, países como Austrália, Nova Zelândia e Estados Unidos recomendam a genotipagem de reprodutores White Dorper como medida de controle da disseminação desta doença nos rebanhos. No Brasil não existem estudos objetivando identificar animais portadores desta doença que recentemente foi diagnosticada em dois animais no estado de São Paulo. Assim, o objetivo do presente estudo foi identificar, através de um teste baseado em PCR-RFLP, animais portadores da mutação c.421G>T no exon 2 do gene ADAMTS2 (mutação causal da astenia cutânea em ovinos) em rebanhos da raça White Dorper. Para isso, foram coletadas amostras de sangue de 48 animais da raça White Dorper, o DNA foi extraído utilizando um protocolo de extração salina e então os indivíduos foram genotipados para a mutação c.421G>T no exon 2 do gene ADAMTS2 utilizando um teste baseado em PCR-RFLP com a enzima de restrição BstXI. Dentre os indivíduos genotipados, 46 foram identificados como homozigotos para o alelo selvagem, dois foram identificados como heterozigotos e nenhum foi identificado como homozigoto para o alelo mutante. Estes resultados permitem (assumindo equilíbrio de Hardy-Weinberg) estimar uma proporção de quatro animais acometidos a cada 10.000 nascimentos. A falta de profissionais treinados para realizar o diagnóstico clínico de doenças genéticas em ruminantes e a ausência de programas amplos de diagnóstico e controle destas doenças faz com que muitas das ocorrências sequer sejam registradas. Sendo assim, o presente estudo pretende ser um ponto de partida para o entendimento mais profundo das doenças genéticas em pequenos ruminantes no Brasil, trazendo benefícios diretos aos produtores pois permitirá evitar prejuízos financeiros diretos advindos do aparecimento destas enfermidades.

## Diversidade genética de *Artibeus planirostris* Spix, 1823 (Chiroptera; Phyllostomidae) em diferentes fitofisionomias no Nordeste do Brasil

Carvalho-Neto, FG<sup>1</sup>; Pessoa, LA<sup>2</sup>; Garcia, ACL<sup>3</sup>; Montes, MA<sup>2</sup>; Santos, N<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, PE; <sup>2</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Recife, PE; <sup>3</sup>Centro Acadêmico de Vitória, CAV-UFPE, Vitória de S. Antão, PE

carvalhonetofg@gmail.com

**Palavras-chave:** biomas, COI, filogeografia, ISSR, morcego

Cada vez mais, estudos de biologia evolutiva usam dados moleculares para elucidar lacunas no conhecimento em relação à história natural de diversos organismos. Este tipo de informação permite estimar com precisão a diversidade genética intra e interpopulacional, sendo fundamental na caracterização genética de espécies de ampla distribuição. Exemplo disto é a espécie de quiróptero *Artibeus planirostris* encontrada em praticamente toda a América do Sul. Dessa forma, nosso objetivo foi avaliar a diversidade genética desta espécie em seis populações de três fitofisionomias (Floresta Atlântica-FAT: Goiana e Tamandaré; Brejos de Altitude-BAL: Buique e Brejo dos Cavalos; Caatinga-CAA: Serra Talhada e Triunfo) no Estado de Pernambuco. Para isso foram utilizados o marcador ISSR e o sequenciamento do gene mitocondrial citocromo oxidase subunidade I (COI). Para ISSR empregou-se quatro *primers* em 87 amostras (FAT=37; BAL=21; CAA=29) onde foi possível identificar 153 bandas polimórficas. A Caatinga foi o ambiente com o maior número de bandas polimórficas (121), seguido por Floresta Atlântica (113) e Brejos de Altitude (83). Na análise entre fitofisionomias a maior diferença foi entre Caatinga e Brejos de Altitude (0,195). Através da AMOVA observamos uma elevada diferenciação genética entre as populações e as fitofisionomias ( $F_{st}=0,304$ ). Para o estudo do gene *COI* foram sequenciadas 22 amostras (FAT= 13; BAL= 5; CAA= 4) onde se verificou 32 sítios polimórficos para um total de 15 haplótipos. A diversidade genética para o gene COI foi de 0,91. O dado de ISSR, que usa regiões genômicas de rápida evolução, sugere uma estruturação das populações e fitofisionomias. Esta estruturação não foi verificada para o gene *COI*, sendo este, evolutivamente, mais lento de que o DNA estudado pelo ISSR, embora necessite da avaliação de mais sequências. Evidencia-se neste trabalho a necessidade que pesquisas animais sejam realizadas com amostras que contemplem diferentes pontos da distribuição geográfica da espécie em estudo.

Suporte financeiro: CAPES, FACEPE

## Uso do marcador ITS2 como ferramenta para identificar traços do parasitoide *Cotesia* sp. (Hymenoptera: Braconidae) em *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae).

Barros, RP<sup>1</sup>; Regueira-Neto, MS<sup>2</sup>; Balbino, VQ<sup>2</sup>, Loreto, V<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Genética e Citogenética Animal, Departamento de Genética, Centro de Ciências Biológicas, UFPE, Recife, PE. <sup>2</sup>Laboratório de Bioinformática e Biologia Evolutiva, Departamento de Genética, Centro de Ciências Biológicas, UFPE, Recife, PE.

rafabarros.bio@gmail.com

**Palavras-chave:** *Diatraea*, Identificação, Barcode, Cana-de-açúcar, Broca-pequena.

*Diatraea saccharalis* e *D. flavipennella* pertencentes à família Crambidae são as principais pragas da cana-de-açúcar (Complexo Saccharum) no Brasil, causando prejuízos ao setor sucroalcooleiro. Conhecidas popularmente como broca pequena da cana-de-açúcar, *D. saccharalis* está presente em toda a extensão canavieira do Brasil, enquanto *D. flavipennella* ocorre nas regiões nordeste e sudeste. A utilização do parasitoide *Cotesia flavipes* é amplamente empregada no controle biológico destas pragas, entretanto, há controvérsias sobre a eficiência deste método para *D. flavipennella*. Para esta espécie é mais recomendada a utilização do controle por fungos entomopatogênicos. Logo, identificar corretamente e rapidamente qual a espécie responsável pela infestação pode diminuir drasticamente os danos causados pelo uso do método de controle incorreto. O Internal Transcribed Spacer 2 (ITS 2) - inserido entre as subunidades ribossômicas 5.8S e 28S - é um marcador utilizado para discernir famílias e gêneros, além de ser utilizado em níveis mais baixos para diferenciar espécies. O trabalho objetivou utilizar o marcador ITS 2 para identificar *D. flavipennella* e possíveis traços moleculares do parasitoide no indivíduo adulto. Foram utilizados entre larvas e adultos 9 espécimes provenientes da Destilaria Miriri (Santa Rita/PB). O DNA foi obtido a partir de uma solução de extração aquecida, purificado com etanol, suspenso em água e armazenado a -20°C. A região de ITS 2 foi obtida através de PCR com primers universais para a sequência. Os amplicons foram sequenciados e comparados via BLAST com as sequências disponíveis no GenBank. As análises foram realizadas com o programa MEGA 6.06. Dentre as 5 sequências obtidas, três possuem 448pb e uma 408pb, ambas com percentual de GC de 48% e uma com 367pb e 31% de GC. Quando realizado o alinhamento e a montagem das árvores com sequências de *D. saccharalis* e *D. flavipennella* previamente conhecidas, as sequências com mais de 400pb formaram um grupo monofilético com outras de *D. flavipennella*, deixando a sequência com 367pb isolada. Ao ser comparado no banco de dados foi verificada a alta similaridade da sequência deste espécime com sequências de ITS2 de organismos do gênero *Cotesia*. Este fato evidenciou que fragmentos de DNA do parasitoide foram encontrados e amplificados em indivíduos adultos de *D. flavipennella* o que indica que mesmo após serem inoculados, os ovos de *Cotesia* sp. não desencadeiam uma série de reações de imunossupressão que levam ao não encapsulamento por células de defesa do hospedeiro, reação descrita em *D. saccharalis*. Aplicar o marcador ITS 2 foi eficiente na identificação de espécimes de *D. flavipennella*, além de identificar vestígios do parasitoide no organismo adulto.

Suporte financeiro: CNPq e FACEPE

## Diversidade cromossômica de populações de duas espécies de *Enyalius* (Leiosauridae, Squamata) provenientes do sudoeste baiano

Figueredo, MS<sup>1</sup>; Silva, FJ<sup>1</sup>; Rodrigues, MT<sup>2</sup>, Garcia, C<sup>1</sup>, Freitas, LB<sup>1</sup>. Lemos, EP<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>PPGGBC -Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Jequié-BA. <sup>2</sup>Instituto de Zoologia, Universidade de São Paulo, USP-SP

millenasf@yahoo.com.br

**Palavras-chave:** rearranjos cromossômicos; análises citogenéticas, *Enyalius*, Bandamento-C; Ag-RON.

*Enyalius* é um gênero de lagartos que ocorre ao longo da Mata Atlântica em habitats florestais no Brasil central, em manchas dispersas de habitats favoráveis ao longo da Serra do Espinhaço leste e na Caatinga. Atualmente o gênero compreende nove espécies e dados cromossômicos demonstram uma tendência de conservação da macroestrutura cromossômica, a despeito de variações nos padrões de Bandamento C e regiões organizadoras de nucléolo (RONs). No presente estudo foram analisadas citogeneticamente três populações de *E. catenatus* (Morro do Chapéu – 4 indivíduos; Parque Estadual do Conduru – 1 indivíduo; Boa Nova – 1 indivíduo) e uma população de *E. bibroni* (3 indivíduos). Para tal foram realizadas técnicas de coloração convencional, Ag-RONs e Bandamento-C a fim de contribuir com novos dados cromossômicos para o gênero. Todas as populações analisadas apresentaram número diploide  $2n=36$ , com exceção da população de *E. catenatus* do Parque Estadual do Conduru (PESC) que apresentou  $2n=38$ . As populações de *E. catenatus* de Boa Nova e Morro do Chapéu e *E. bibroni* apresentaram fórmula cariotípica de 12 macrocromossomos e 24 microcromossomos, diferindo da população do PESC que apresentou 14 macrocromossomos. Apesar da manutenção da fórmula cariotípica a população de *E. catenatus* de PESC apresentou 2 pares de cromossomos acrocêntricos, os quais estavam ausentes nas demais populações da espécie que foram analisadas. e *E. bibroni* apresentou um par de macrocromossomos acrocêntricos. As RONs foram localizadas na porção terminal dos braços longos do segundo par de macrocromossomos para todas as populações analisadas e os blocos heterocromáticos mostraram-se variados quantidade e localização, tanto intra como interespecificamente. Em *E. catenatus*, a população do PESC apresentou BC+ na região pericentromérica da maioria dos macro e microcromossomos. A população de Boa Nova apresentou BC+ na maioria dos macrocromossomos. As populações de Morro do Chapéu mostraram blocos na maioria dos microcromossomos e no quinto par macrocromossomos. *E. bibroni* evidenciou BC+ nos microcromossomos. A variação numérica observada em *E. catenatus* pode ser explicada através da ocorrência de rearranjos robertsonianos, enquanto que a diferença na composição cromossômica observada para as espécies, assim como as variações na localização dos blocos heterocromáticos deve-se possivelmente a rearranjos não robertsonianos. Os dados obtidos demonstram que há significativa variação cromossômica para o gênero, indicando que há diversidade críptica resultando em formas geográficas variantes, as quais podem desempenhar importante papel na diferenciação do grupo.

Apoio Financeiro: CAPES.

## Análise da diversidade genética de genes nucleares e genes mitocondriais em populações de *Drosophila willistoni*

MELO, ZGS<sup>1</sup>; OLIVEIRA, GF<sup>2</sup>; MENDONÇA, JAN<sup>2</sup>; GARCIA, ACL<sup>2</sup>; MONTES, MA<sup>3</sup>; MOURA, RC<sup>4</sup>; ROHDE, C<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Programa de Pós Graduação em Genética, UFPE; UPE; <sup>2</sup>Laboratório de Genética, UFPE-CAV; <sup>3</sup>Laboratório de Bioquímica, Genética e Sequenciamento, UFRPE; <sup>4</sup>Laboratório de Biodiversidade e Genética de Insetos, UPE

zilpation@gmail.com

**Palavras-chave:** Variabilidade genética, Drosophilidae, elemento F

*Drosophila willistoni* é uma espécie de drosofilídeo que pertence ao subgrupo críptico *willistoni* do gênero *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae). A espécie tem uma ampla distribuição Neotropical, que vai desde a Flórida e México até o Uruguai e norte da Argentina, com clara preferência por ambientes de floresta úmida, onde muitas vezes é a espécie mais abundante. Em 2007 *D. willistoni* teve seu genoma sequenciado e, com isso, ampliaram-se as possibilidades de estudos moleculares e evolutivos. Desde então, tem sido nosso objetivo estudar aspectos da diversidade genética em populações de *D. willistoni*, e contribuir para o entendimento das questões ainda não bem esclarecidas sobre sua evolução e as relações filogenéticas com as demais espécies crípticas e não crípticas. Aqui, apresentamos resultados do estudo da variabilidade genética de genes nucleares localizados no elemento cromossômico F, que sofreu algumas reorganizações durante a formação de novas espécies da família Drosophilidae. Um dos casos raros e particulares aconteceu nas espécies do grupo *willistoni* onde ocorreu a fusão do elemento F com o elemento E, resultando em um cromossomo acrocêntrico. Na maioria das espécies, entretanto, F é um cromossomo individualizado e muito pequeno (também chamado de pontual ou *dot*). A fim de conhecer a diversidade das sequências de genes nucleares do elemento F, foram construídos *primers* com base no genoma de *D. willistoni* e foram amplificadas sequências parciais dos genes *PlexinB* (*PB*) *Ankyrin* (*ANK*), *Host Cell Factor* (*HCF*) e *Zinc Finger Homeodomain-2* (*ZFH-2*), além dos genes mitocondriais *Citocromo oxidase I* (*COI*) e *Citocromo oxidase II* (*COII*). Os tamanhos dos fragmentos obtidos variaram de 680 a 830 pares de bases, entre os genes. As amostras de *D. willistoni* estudadas foram coletadas recentemente no estado de Pernambuco na Reserva Ecológica de Saltinho, Parque Estadual Dois Irmãos e Parque Ecológico João Vasconcelos Sobrinho. Três genes nucleares (*PB*, *ANK* e *ZFH-2*) foram monomórficos entre as amostras, ou seja, apresentaram o mesmo haplótipo. Já os genes *HCF*, *COI* e *COII* tiveram variações, sendo 2, 8 e 3 sítios variáveis, respectivamente. Do conjunto dos resultados chama a atenção que a variabilidade observada ocorreu dentro e entre as populações, sem uma estruturação genética aparente. As sequências variáveis de *HCF*, *COI* e *COII* contrastaram com a reconhecida diversidade que *D. willistoni* possui quanto aos rearranjos cromossômicos do tipo inversões paracêntricas. Ao serem comparados os resultados com os obtidos para outras espécies crípticas do grupo *willistoni*, como *D. paulistorum* e *D. equinoxialis*, e com a espécie não críptica *D. nebulosa*, ainda assim *D. willistoni* surpreende pela baixa diversidade. Estas e outras questões ecológicas e genéticas associadas à diferenciação das populações brasileiras são discutidas neste trabalho.

Financiamento: FACEPE, CNPq e PROPESQ-UFPE.

## Caracterização inicial da estrutura genética de populações de *Drosophila willistoni* baseada no marcador *ISSR*

Zilpa das Graças Silva de Melo<sup>1</sup>, Geyner Alves dos Santos Cruz<sup>2</sup>, Jaqueline Alves Nery de Mendonça<sup>3</sup>, Ana Cristina Lauer Garcia<sup>3</sup>, Claudia Rohde<sup>3</sup>, Martín Alejandro Montes<sup>4</sup> e Rita de Cássia de Moura<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós Graduação em Genética, UFPE; <sup>2</sup>Laboratório de Biodiversidade e Genética de Insetos, UPE;

<sup>3</sup>Laboratório de Genética, UFPE-CAV; <sup>4</sup>Laboratório de Bioquímica, Genética e Sequenciamento, UFRPE

zilpation@mail.com.br

**Palavras-chave:** Variabilidade genética, marcadores moleculares, Drosophilidae

O grupo *willistoni* de *Drosophila* é o grupo de espécies mais bem representado nas comunidades neotropicais de insetos da família Drosophilidae. A caracterização da diversidade genética populacional de drosofilídeos é importante uma vez que a baixa diversidade influencia diretamente na adaptação desses indivíduos e na viabilidade em curto prazo de populações remanescentes. Foi objetivo deste trabalho avaliar a diversidade genética de 20 indivíduos de *Drosophila willistoni* pertencentes a quatro populações da Floresta Atlântica, através do marcador *ISSR* (*Inter Simple Sequence Repeat*). As populações investigadas foram coletadas em Jequiçá/BA, REBIO de Saltinho/PE, Parque Estadual Dois Irmãos/PE e REBIO de Guaribas/PB. O DNA de cada indivíduo foi extraído e submetido à reação em cadeia da polimerase (PCR), resultando em uma variedade de fragmentos polimórficos entre as amostras. Um total de 49 *primers* foram testados, sendo apenas quatro deles escolhidos para esta primeira investigação. Os produtos de PCR foram visualizados em géis de agarose 1,8% e fotografados, a partir dos quais foram construídas matrizes de dados binários (presença e ausência). Parâmetros como número de polimorfismos, número médio de polimorfismos e índice de fixação de Wright foram analisados no programa Arlequin 3.5. Das populações investigadas foram obtidas 41 regiões amplificadas de *ISSR*. Na população Jequiçá, 25 destes fragmentos foram variáveis entre os indivíduos, com uma diferença média de 12,6. Na população de Saltinho, 26 fragmentos foram variáveis (diferença média de 12,6); no Parque Dois Irmãos, 25 fragmentos foram variáveis (diferença média de 13,6) e na população de Guaribas, foram observados 15 fragmentos polimórficos (diferença média de 7,4). De acordo com os dados a diversidade intrapopulacional foi maior em Dois Irmãos, que se caracteriza como um reduto de Floresta Atlântica, cercado pelo ambiente urbano de Recife/PE. Quando comparamos as populações aos pares, o número médio de diferenças de *ISSR* entre Jequiçá e Saltinho foi o menor quanto ao número de polimorfismo (14,88), enquanto que Saltinho e Guaribas apresentaram a maior diferença (17,78). Em conjunto, a medida obtida de diferenciação das populações ( $F_{st}$ ) devido à estrutura genética foi de 0,28 significando um nível muito alto de diferenciação entre as populações de *Drosophila willistoni*, coletadas recentemente nos estados da Bahia, Pernambuco e Paraíba.

Financiamento: FACEPE e CNPq.

## Identificação molecular PCR-RFLP baseado no gene mitocondrial 16S para conservação do miquiqui (*Brachyteles arachnoides*): contribuição ao combate a caça ilegal

Cardoso, M.L.V.<sup>1</sup>; Ferreira, P.B.<sup>1</sup>; Torres, R.A.<sup>2</sup>; Gomes, M.T.<sup>3</sup>; Teixeira, R.H.F.<sup>4</sup>; Duarte, J.M.B.<sup>5</sup>; Garcia, J.E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Núcleo de Biologia, Centro Acadêmico de Vitória – UFPE, Vitória de Santo Antão. <sup>2</sup>Laboratório de Genômica Evolutiva e Ambiental – Depto de Zoologia, Centro de Ciências Biológicas – UFPE, Recife. <sup>3</sup>Departamento de Ciências Biológicas – UNIFESP/Diadema. <sup>4</sup>Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros – Sorocaba/SP. <sup>5</sup>Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP – Jaboticabal

**Palavras-chave:** Caça predatória, *Brachyteles*, 16S, Miquiqui, DNA forense

Considerado o maior primata neotropical endêmico na mata atlântica o miquiqui (*Brachyteles arachnoides*) está listado como uma das espécies mais ameaçadas de extinção do mundo devido à perda de habitat e a forte pressão da caça. Apesar da caça predatória ser estritamente proibida, ela é fator de redução populacional em diversas espécies silvestres. Uma das principais dificuldades para redução desta prática é a inexistência de ferramentas cientificamente comprovadas que possam ser utilizadas para comprovação do ato da caça. Aqui nós descrevemos um método molecular baseado em mutações de nucleotídeos no gene mitocondrial 16S do miquiqui capaz de diferenciar-lo de espécies domésticas comumente utilizadas como fontes de alimento no Brasil. Para tanto, foi recuperado no *GenBank* seqüência parcial do gene mitocondrial 16S do miquiqui e seqüências completas dos animais domésticos em estudo (*Bos taurus*, *Sus scrofa*, *Capra hircus* e *Ovis aries*). Tais seqüências foram analisadas pelos pacotes computacionais *Sequencher* 4.9 (Gene Codes) e *BioEdit* 6.0.7 para que fossem eliminadas as seqüências redundantes e detectados os polimorfismos. A partir de análises in silico das seqüências, foi selecionado um par de primers universais capaz de amplificar um fragmento de tamanho padrão de aproximadamente 542pb para todas as espécies estudadas. O Amplicon contém o sítio de restrição da enzima *BanI* para o miquiqui gerando fragmentos específicos de 55+204+264pb, permitindo a identificação da espécie. A ferramenta molecular aqui proposta constitui um produto tecnológico que pode dar suporte à órgãos de fiscalização do comércio ilegal de carnes de animais silvestres, sendo também útil para estudos ecológicos e para identificação dos hábitos alimentares de predadores.

## Identificação de espécies crípticas do grupo *willistoni* de *Drosophila* de cinco ambientes de Floresta Atlântica do Nordeste do Brasil

Mendonça, JAN<sup>1,2</sup>; Melo, ZGS<sup>2,3,4</sup>; Moura, RC<sup>3</sup>; Montes, MA<sup>4</sup>; Oliveira, GF<sup>2</sup>; Garcia, ACL<sup>2</sup>; Rohde, C<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>-Iniciação Científica, Curso de Ciências Biológicas, UFPE; <sup>2</sup>-Laboratório de Genética, Centro Acadêmico de Vitória, UFPE; <sup>3</sup>-Laboratório de Biologia e Genética de Insetos, UPE, <sup>4</sup>- Laboratório de Bioquímica, Genética e Sequenciamento, UFRPE.

jaquemendonca@outlook.com

**Palavras-chave:** Distribuição, Drosophilidae, populações naturais

O grupo *willistoni* de *Drosophila* é composto por pelo menos seis diferentes espécies crípticas, incluídas no subgrupo *willistoni*. Destas, *D. willistoni* se destaca como a única espécie de drosofilídeo com distribuição Neotropical a ter seu genoma sequenciado. A ocorrência em simpatria de espécies crípticas de drosofilídeos, como é o caso da *D. willistoni* e *D. paulistorum* na região Neotropical, dificulta os estudos mais aprofundados sobre a variabilidade genética de populações naturais, pois para qualquer estudo, é necessária a correta identificação das espécies. Muitas vezes, essa diferenciação exige um trabalhoso processo, seja ao nível da caracterização da genitália masculina de cada indivíduo, seja na preparação de cromossomos politênicos ou no sequenciamento de genes específicos. Neste trabalho buscou-se reconhecer a presença destas espécies em cinco ambientes de Floresta Atlântica do Nordeste do Brasil, através da padronização de métodos de identificação. Coletas dos indivíduos estudados foram feitas nas matas dos municípios de Jequiçá na Bahia; Tamandaré, Caruaru e Recife em Pernambuco; e Mamanguape na Paraíba. Primeiramente, os adultos coletados foram identificados como pertencentes ao subgrupo críptico *willistoni* através da análise da morfologia externa do corpo. Em seguida cada uma das fêmeas foi acondicionada em um tubo individual com meio de cultivo, para que pudesse colocar ovos e dar início a uma linhagem. Cerca de 300 linhagens foram assim estabelecidas. De cada uma delas, um macho adulto descendente foi selecionado e identificado ao nível de espécie, através da análise da estrutura da sua genitália (hipândrio). Na maioria das localidades *D. willistoni* foi a espécie mais abundante do subgrupo *willistoni*. Sua frequência relativa variou de 100 a 45,9%. As maiores abundâncias foram obtidas nas coletas feitas mais ao sul, na Bahia e Pernambuco (Jequiçá e Saltinho) com frequência de 100%, e a menor frequência foi obtida na localidade situada mais ao norte (Guaribas) onde a frequência foi de 45,9%. Guaribas foi, portanto, o local em que *D. paulistorum* foi a espécie mais abundante. Uma caracterização fotográfica da terminália masculina típicas das populações de *D. willistoni* e *D. paulistorum* é apresentada neste trabalho. A identificação de cada espécie foi também investigada através do sequenciamento do gene mitocondrial *Citocromo oxidase I* (681 pb) e dos genes nucleares *PlexinB* (836 pb) e *Anryrin* (694 pb). As amostras de *D. paulistorum* do Nordeste formaram um grupo separado das demais populações brasileiras analisadas (Pará e Rondônia), enquanto que *D. willistoni* formou um grande grupo, sem diferenciação geográfica. O gene mais espécie-específico foi *Ankyrin*, que em *D. willistoni* tem nove nucleotídeos deletados, em *D. equinoxialis* outros três, e em *D. paulistorum*, nenhuma das deleções anteriores.

Financiamento: FACEPE, CNPq e PROPESQ-UFPE.

## Caracterização espaço-temporal da variabilidade genética de populações naturais de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) (diptera: culicidae) oriundas de dois bairros do município de Campina Grande, Paraíba.

Pereira, BNS<sup>1</sup>; Bezerra, EB<sup>1</sup>; Martins, WFS<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Estadual da Paraíba, Departamento de biologia, Campina Grande, PB

barbara.natieli@gmail.com

**Palavras-chave:** Insetos vetores, Dengue, Marcadores microssatélites, Genética de populações, Sazonalidade.

*Aedes aegypti*, é o principal vetor da dengue, atualmente considerada a mais importante arbovirose nas regiões tropicais e subtropicais. Por não existir vacina para prevenção desta doença, o controle do mosquito vetor constitui a principal intervenção para reduzir a transmissão do vírus. Entre as estratégias utilizadas para o controle das populações do *A. aegypti* o uso de inseticidas químicos, controle biológico e eliminação de criadouros são os métodos amplamente utilizados. No entanto, a utilização destes métodos não levam em consideração fatores ecológicos, climáticos e genéticos. A compreensão dos padrões genéticos e da distribuição espacial deste vetor é importante para rastrear e monitorar a dispersão de genes, especialmente aqueles envolvidos na resistência a inseticidas e diferença da capacidade vetorial. Desta forma, o presente trabalho objetivou avaliar a influência da variação sazonal sobre a estrutura genética e dispersão em microescala de populações naturais de *A. aegypti* oriundas de dois bairros do município de Campina Grande através de três marcadores de microssatélites. Durante a coleta de dados também foi realizado levantamento entomológico e aquisição de indicadores meteorológicos, para caracterizar a influência de fatores climáticos sobre a estrutura e diversidade genética das populações. O inquérito entomológico evidenciou que no período chuvoso, ocorreu um aumento de 68,77% na oviposição, no entanto número de fêmeas manteve-se constante em ambos os períodos. A análise de diversidade genética revelou um total de 8 alelos no período seco e 10 no período chuvoso. O maior valor de heterozigosidade esperada ( $H_E$ ) valor foi observado no bairro do Catolé, no período chuvoso ( $H_E = 0,476$ ) enquanto que o menor no bairro do José Pinheiro, período seco ( $H_E = 0,367$ ). O índice de fluxo gênico ( $Nm$ ) entre as populações foi superior a 50 em ambos os períodos com alto índice de similaridade genética  $F_{ST} = 0,015$  no período seco e 0,019 no período chuvoso, enquanto que a análise de variância molecular (AMOVA) revelou grande nível de diferenciação genética dentro das populações (76%). Contudo, as análises de coordenadas principais e bayesiana evidenciaram a presença de dois grupos distintos de populações, os quais não refletem a distribuição geográfica, porém revelou um padrão de agrupamento associado aos efeitos climáticos. Desta forma, nossos resultados sugerem a necessidade de maior intervenção de controle deste vetor também durante o período chuvoso, uma vez que o elevado número de oviposição observado nesse período pode resultar em aumento populacional e conseqüentemente aumento na diversidade genética, os quais poderão dificultar o controle populacional durante os períodos de surto da dengue.

Suporte financeiro: Propesq UEPPB

## Caracterização cromossômica e morfométrica de duas espécies de pererecas das bromélias do gênero *Phyllodytes* (Anura, Hylidae)

Nascimento, APB; Nunes, L; Zina, J; Garcia, C.

Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação. Laboratório de Citogenética. Programa de Formação de Recursos Humanos- PRH 211. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Rua José Moreira Sobrinho, s/n, Jequiézinho, Jequié-BA

*aluap\_ana16@hotmail.com*

**Palavras-chave:** Anfíbios, bromelígenas, diversidade morfométrica, marcadores cromossômicos, rearranjos robertsonianos

O gênero *Phyllodytes*, compreende 12 espécies e está alocado na família Hylidae. As espécies desse gênero são popularmente conhecidas como pererecas das bromélias, ocorrem tipicamente em ambientes de Mata Atlântica, e são intrinsecamente associados à bromélias, pois fornecem abrigo, local para postura de ovos e desenvolvimentos de girinos. A especificidade anfíbio/ bromélia, torna o gênero muito susceptível à degradação ambiental, uma vez que a presença dessas plantas é, geralmente, afetada por modificações ambientais. Anuros, de modo geral, são pouco estudados do ponto de vista morfométrico e cromossômico, sendo *Phyllodytes* um dos gêneros menos conhecidos dentro de Hylinae. Nesse contexto, o objetivo do estudo foi caracterizar citogeneticamente três populações de *Phyllodytes* sp. e uma população de *P. luteolus*, e verificar se há diferenças morfométricas interpopulacionais e interespecíficas, cabe salientar que a espécie *Phyllodytes* sp. está em processo de descrição e é morfologicamente muito similar a *P. luteolus* com a qual era até recentemente confundida. Os exemplares de *Phyllodytes luteolus* foram coletados na Barragem de Pedra (N=22) localizada no município de Jequié, enquanto que os exemplares de *Phyllodytes* sp. foram coletados em Barra Grande península de Marau (N=12), no Parque Estadual Serra do Condurú (N=11) e na Reserva Particular da Natureza (N=8) ambos localizados no distrito de Serra Grande. Todos os pontos de coleta localizam-se na Bahia. Para as análises morfométricas, obtivemos fotografias da face dorsal dos exemplares. A partir destas, nove marcos anatômicos foram analisados. As preparações de cromossomos mitóticos foram submetidas à coloração convencional, bandamento C e impregnação por nitrato de prata. *Phyllodytes* sp. apresentou número diploide  $2n=24$  e  $NF=48$ , enquanto que *P. luteolus* apresentou  $2n=22$  e  $NF=44$ . A impregnação por nitrato de prata evidenciou as regiões organizadoras de nucléolos (Ag-RONs) localizadas terminalmente nos braços longos do oitavo par cromossômico em *Phyllodytes* sp. e terminais nos braços longos do segundo par em *P. luteolus*. Ambas as espécies apresentaram uma pequena quantidade de heterocromatina localizada principalmente na região pericentromérica, exceto por alguns blocos heterocromáticos localizados terminalmente. A diferença de número diploide e posicionamento das Ag-RONs permitiram diferenciar as duas espécies, indicando que rearranjos cromossômicos robertsonianos podem ter desempenhado um importante papel em sua diversificação. A Análise de Componentes Principais para os dados morfométricos reforçou a formação de dois grupos para o gênero separando as duas espécies. Embora o estudo ainda esteja em fase inicial os resultados já indicam a presença de cariótipos espécie-específicos para o grupo e que essas diferenças são reforçadas por variações morfológicas.

Suporte Financeiro: Petrobras

## Prevalência de cromossomos B no gafanhoto *Xyleus discoideus angulatus* em populações de Pernambuco e Ceará, Brasil.

Bernardino, ACS<sup>1</sup>; Oliveira, EFAS<sup>1</sup>; Câmara, GAF<sup>1</sup>; Melo, GCV<sup>1</sup>; Santos, N<sup>1</sup>; Loreto, V<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Genética e Citogenética Animal, Departamento de Genética, CCB, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife, PE.

andrezzacarol@hotmail.com

**Palavras-chave:** gafanhoto, população, cromossomo B.

A espécie *Xyleus discoideus angulatus* é endêmica da região nordeste do Brasil e apresenta cariótipo com número diploide de  $2n = 23, 24 X0:XX$ . Cromossomo B foi descrito anteriormente para essa espécie e recentemente um segundo tipo de B (B2) foi encontrado em uma população de Juazeiro do Norte – CE. O objetivo do presente trabalho foi realizar um levantamento de cromossomos B no gafanhoto *Xyleus discoideus angulatus* em populações de Pernambuco e Ceará, para obter um maior conhecimento da prevalência de cromossomos B nestas localidades e aprofundar os estudos do cromossomo B2, detectando sua distribuição e características citogenéticas. Para isso, um total de 215 indivíduos machos da espécie foi coletado em 10 localidades distintas de Pernambuco, com 161 gafanhotos analisados nesta região. Uma localidade do Ceará (Juazeiro do Norte) foi analisada, sendo que, para esta região foram coletadas duas populações distintas, com um total de 54 gafanhotos. Células meióticas foram analisadas, obtidas através da técnica clássica de esmagamento de folículos testiculares, onde o material foi corado com orceína lacto-acética a 2%. As preparações citológicas foram analisadas através da contagem dos cromossomos e foi atribuída a presença ou ausência de cromossomos B em todos os indivíduos avaliados. Além disso, foi realizada a medição dos cromossomos X e B de 20 indivíduos, sendo 10 de Pernambuco e 10 do Ceará para se obter valores médios de tamanho a fim de comparar e diferenciar os cromossomos B. Os resultados mostraram que o número de Bs variou de zero a um. Cinco populações de Pernambuco, provenientes de Surubim, Goiana, Toritama, Tracunhaém e Cabo de Santo Agostinho não apresentaram nenhum indivíduo com o elemento extra. Três populações de Pernambuco dos municípios de Gravatá, Lagoa do Carro e Garanhuns apresentaram apenas um indivíduo com 1B e quatro populações provenientes de Belo Jardim (PE), Bezerros (PE), Juazeiro do Norte (CE) – coletado no ano de 2007 - e Juazeiro do Norte (CE) – coletado em 2011 e 2013 - mostraram mais de um indivíduo com 1B. Uma amostra de Juazeiro do Norte mostrou uma alta prevalência de Bs, equivalente a 44,44%, onde também foi verificado que o B encontrado nesta localidade difere, em relação ao tamanho, do cromossomo B encontrado em Pernambuco. O cromossomo B diferenciado mostrou-se acrocêntrico, heteropicnótico e possui um tamanho reduzido em relação ao B de Pernambuco, sendo esta a única diferença encontrada entre os dois cromossomos B até o momento. O tamanho diferenciado dos cromossomos supernumerários foi confirmado através de suas medidas, com a relação X/B dos exemplares do Ceará mostrando um valor maior do que os exemplares de Pernambuco. Os dados mostram que há uma variação de Bs entre as populações e que estes elementos extras estão amplamente distribuídos na espécie. A ausência de Bs em algumas populações pode ser atribuída ao tamanho pequeno da amostra analisada nessas localidades ou ao seu isolamento geográfico. Contudo, a alta prevalência na população do Ceará e o cromossomo B diferenciado (B2) podem indicar a ação de mecanismo de acumulação que os cromossomos B utilizam, evitando sua eliminação no genoma e podendo gerar novas variantes.

Suporte financeiro: Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco – FACEPE e Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.

## Mapeamento físico dos genes de DNAr 18S e histona H3 em indivíduos de *Xyleus discoideus angulatus* (Orthoptera: Romaleidae) portadores de cromossomos B em populações do Ceará, Brasil.

Bernardino, ACS<sup>1</sup>; Santos, N<sup>1</sup>; Loreto, V<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Genética e Citogenética Animal, Departamento de Genética, CCB, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife, PE.

*andrezzacarol@hotmail.com*

**Palavras-chave:** gafanhoto, cromossomo B, FISH.

Cromossomos B podem ser estudados citogeneticamente através de diferentes técnicas ou abordagens, buscando compreender melhor sua natureza e evolução. A técnica de hibridização *in situ* fluorescente (FISH) tem sido importante para estes elementos, pois permitiu caracterizar a presença de algumas classes de DNA repetitivo, como DNAr 45S, 5S e histona H3 em Bs. O objetivo do presente trabalho foi realizar um mapeamento físico dos genes de DNAr 18S e histona H3 na espécie de gafanhoto *Xyleus discoideus angulatus*, em indivíduos que apresentam cromossomo B, provenientes de populações do Ceará. O trabalho foi realizado para obter um maior conhecimento acerca da dinâmica evolutiva que a variante do cromossomo B (B2) pode causar no genoma dos indivíduos da espécie. Para isso, um total de cinco indivíduos machos que apresentava cromossomo B2 foi coletado em Juazeiro do Norte - CE. Para o mapeamento físico, a técnica de FISH foi empregada, utilizando sondas de DNAr 18S e histona H3 marcadas com digoxigenina. Os resultados do mapeamento físico do gene de DNAr 18S revelaram a presença de quatro padrões distintos de localização dos sítios: dois indivíduos apresentaram marcações na região pericentromérica dos cromossomos G3, M4 e M6, um mostrou sítios na região pericentromérica dos cromossomos G3, X, M4 e M6, enquanto outro, além de apresentar estas quatro marcações, mostrou um sítio adicional na região pericentromérica do bivalente G2, sendo este, heterozigoto para o locus de DNAr 18S neste par autossômico. O último padrão observado apresentou sítios na região pericentromérica dos autossomos G2, que foi heterozigoto, G3, M4 e M6, com ausência do sítio no cromossomo X. Os resultados da FISH para os genes de histona H3 mostraram presença de dois padrões de distribuição diferentes para seus sítios. O mais comum, visto em quatro indivíduos, foi a presença de marcações na região pericentromérica dos cromossomos G2, M4 e X e um indivíduo, além de apresentar os sítios descritos anteriormente, mostrou uma marcação adicional na região pericentromérica do cromossomo P9, sendo este, heterozigoto para o locus de histona H3. O fato de alguns indivíduos não apresentarem sequências de DNAr 18S no cromossomo X e mostrarem uma sequência de histona H3 no P9 ainda não havia sido observado para a espécie. Em populações de Pernambuco, os genes de DNAr 18S foram descritos para os cromossomos G3, M4 e X ou G3 e X, enquanto a histona H3 foi observada apenas nos bivalentes G2, M4 e X. Esta dispersão das sequências repetitivas pode ser atribuída a mecanismos de expansão do genoma, como translocações e/ou transposições. Com estes novos resultados encontrados, abordagens acerca da origem dos cromossomos Bs nessa espécie precisam ser revisadas.

Suporte financeiro: Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco – FACEPE e Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.

## Evidências da origem do cromossomo B de *Rhammatocerus brasiliensis* (Orthoptera-Acrididae)

Melo, SA<sup>1</sup>; Cabral-de-Mello, DC<sup>2</sup>; Moura, RC<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Biodiversidade e Genética de Insetos, ICB, Universidade de Pernambuco, Brasil. <sup>2</sup>Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências/IB, Departamento de Biologia, Rio Claro, São Paulo, Brasil.

*adrianadesouzamelo@gmail.com*

**Palavras-chave:** Gafanhoto, Famílias multigênicas, Histona H3, FISH, Evolução

Cromossomos B são elementos extras dispensáveis e ocorrem em cerca de 15% das espécies de eucariotos. Podem ser originados intraespecificamente ou interespecificamente de cromossomos autossômicos e/ou cromossomos sexuais. Estes cromossomos possuem como característica o acúmulo de sequências repetitivas, como por exemplo, famílias multigênicas e elementos transponíveis. Através da técnica de hibridação *in situ* fluorescente (FISH) tem sido possível a localização de sequências de DNA a fim de proporcionar avanços no conhecimento da composição e origem do cromossomo B. Este trabalho tem por objetivo o estudo da possível origem do cromossomo B no gafanhoto *Rhammatocerus brasiliensis* através do mapeamento do gene de histona H3. Foram analisados cinco espécimes portadores de cromossomo B através de FISH com sondas de histona H3. As sondas de histona H3 foram obtidas através do DNA genômico da espécie e marcadas com digoxigenina (dig 11-dUTP) por PCR (Jumpstart TAQ DNA Polimerase com MgCL<sub>2</sub>, SIGMA-ALDRICH). Os sítios de histona H3 apresentaram diferentes padrões: (i) ocorrência no bivalente autossômico M7 e no cromossomo B; (ii) em todos os cromossomos do complemento, incluindo um B (exceto S11); (iv) em todos os cromossomos e no B. Dos cinco indivíduos analisados, todos apresentaram sítios de histona H3 no cromossomo B. A presença do *cluster* de histona H3 apenas no bivalente M7 e o no B em alguns exemplares sugere a possível origem do cromossomo B a partir do bivalente M7, visto que em análises anteriores verificamos indivíduos sem B com marcação apenas no M7. Em 98% dos gafanhotos da família Acrididae estudados por FISH foi observado a presença do *cluster* de histona H3 em apenas um bivalente autossômico, com isso a dispersão dos sítios de histona H3 em todos os cromossomos não é comum e possivelmente isso ocorre devido a ação de elementos transponíveis que estariam amplificando, dispersando e integrando cópias dos *clusters* de histona H3 no genoma dessa espécie. Contudo, estudos envolvendo o mapeamento de elementos transponíveis são necessários para uma melhor compreensão dos mecanismos de dispersão dos sítios de histona H3 na espécie.

Apoio financeiro: CAPES; CNPq

## Caracterização genética preliminar de *Drosophila nebulosa* (Diptera, Drosophilidae) dos biomas de Caatinga e Floresta Atlântica.

Geórgia Fernanda Oliveira<sup>1,2</sup>; Zilpa das Graças Silva de Melo<sup>2</sup>; Luan Airton Marques da Silva<sup>2</sup>; Ana Cristina Lauer Garcia<sup>2</sup>, Martin Alejandro Montes<sup>3</sup>, Vera Lúcia da Silva Valente<sup>4</sup>, Claudia Rohde<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre/RS; <sup>2</sup>Laboratório de Genética, Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Vitória de Santo Antão/PE; <sup>3</sup>Laboratório de Genética, Bioquímica e Sequenciamento de DNA, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife/PE; <sup>4</sup>Departamento de Genética, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre/RS

georgia.fernanda@gmail.com

**Palavras-chave:** HCF, ZFH-2, COII, grupo *willistoni*, populações naturais, variabilidade.

Estudos que explorem a biodiversidade têm assumido elevada importância atualmente e aqueles que se dedicam a elucidar as questões relacionadas à variabilidade genética são cada vez mais necessários, uma vez que respondem bem à relação da dispersão e à ocupação das espécies em seus nichos. Neste cenário, encontram-se as moscas da família Drosophilidae, que apresentam elevado número de espécies, ocupando os mais variados habitats. *Drosophila nebulosa* pertence ao grupo *willistoni* (subgrupo *bocainensis*) de *Drosophila*, e tem ampla distribuição geográfica na região Neotropical, desde os Estados Unidos e México, até o sul do Brasil e na Argentina. Na região Nordeste do Brasil tem sido bastante amostrada nos mais diversos ambientes, desde o semiárido, na Caatinga, até nos Manguezais, Floresta Atlântica e Brejos de Altitude. Apesar da sua abundância, poucos estudos têm sido feitos com populações naturais desta espécie, o que motivou este estudo de caracterização genética de amostras de diferentes biomas. Foi nosso objetivo entender melhor como as populações se diferenciam ao nível do DNA e se a variabilidade genética está ou não associada à plasticidade ecológica desta espécie. Nesta primeira investigação, foram analisadas as sequências parciais de dois genes nucleares, *Host Cell Factor* (*HCF*) e *Zinc Finger Homedomain-2* (*ZFH-2*) e um gene mitocondrial, *Citocromo oxidase subunidade II* (*COII*). As amostras estudadas foram do Parque Nacional Serra da Capivara (PI), Reserva Ecológica Raso da Catarina (BA), cidade do Crato (CE) e Parque Nacional do Catimbau (PE), representando as populações da Caatinga; da Reserva Biológica de Saltinho (PE), Morro Lagoa da Conceição (SC) e Jardim Botânico de Porto Alegre (RS), representando a Floresta Atlântica. O gene *COII* (552 pb) se mostrou bastante conservado entre todas as amostras, e apenas dois nucleotídeos foram variáveis. Já *HCF* (611 pb) e *ZFH-2* (642 pb) foram mais variáveis, com 10 e 14 sítios, respectivamente. A diversidade nucleotídica entre as amostras da Caatinga foi de 0,003645 (sendo 16 transições e 5 transversões), já a diversidade encontrada para as amostras da Floresta Atlântica foi de 0,002958 (5 transições e 3 transversões). A análise molecular da variância mostrou que 100% da variabilidade genética encontram-se dentro das populações, com um índice de divergência genética (*Fst*) igual a zero. Neste trabalho, *D. nebulosa* não apresentou estruturação genética em relação aos biomas Caatinga e Floresta Atlântica para os genes estudados.

## Estudo citogenético clássico em populações de *Phyllopezus pollicaris* (Squamata: Phyllodactylidae) advindos de áreas de Caatinga na Bahia

Jesus Silva, F<sup>1</sup>; Silva, ES<sup>1</sup>; Zina, J<sup>1</sup>; Rodrigues, MT<sup>2</sup>; Garcia, C<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, UESB, Jequié, BA; <sup>2</sup>Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, SP.  
*silva.nando13@hotmail.com*

**Palavras-chave:** Citogenética animal, Bandamento C, RONS, Diversidade críptica, Phyllodactylidae.

O gênero *Phyllopezus*, incluso na família Phyllodactylidae, compreende um táxon que aloca atualmente, quatro espécies de lagartos. Dentre estas, destaca-se *Phyllopezus pollicaris*, um lagarto de hábitos noturnos e dieta insetívora. No Nordeste, esses animais encontram-se amplamente distribuídos, entretanto, devido à insuficiência de estudos envolvendo o grupo, pouco se conhece a respeito de sua biologia. É sabido que a espécie é marcada pela presença de diversidade críptica, apontada principalmente por estudos genéticos e mascarada pela semelhança morfológica entre as unidades identificadas. Com base nesse panorama, o presente estudo objetivou, por meio de uma abordagem citogenética clássica, caracterizar três populações de *P. pollicaris* provenientes dos municípios de Contendas do Sincorá (N=12), Jequié (N=10) e Morro do Chapéu (N=6), todos situados na Bahia. Para a determinação morfológica e numérica dos cromossomos foi aplicada a coloração convencional com giemsa e o estudo das regiões organizadoras de nucléolo (RONS) e de heterocromatina constitutiva, foram baseados na impregnação por nitrato de prata e bandamento C, respectivamente. Todas as populações analisadas apresentaram um número diploide equivalente a 40 cromossomos, com fórmula cariotípica de  $4st+36a$ , sem distinção entre os sexos. As RONS mostraram-se múltiplas e situadas na porção terminal dos braços longos de cromossomos acrocêntricos para todas as populações, porém houve uma variação na quantidade dessas regiões, sendo três, quatro e cinco pares, nas populações de Jequié, Contendas do Sincorá e Morro do Chapéu, respectivamente. O bandamento C evidenciou blocos heterocromáticos situados nas regiões pericentroméricas de alguns cromossomos, porém, assim como as RONS, variaram quanto ao tamanho e quantidade, na qual, a população de Morro do Chapéu apresentou dois pares de cromossomos BC+, e as populações de Jequié e Contendas do Sincorá, três e seis, respectivamente. Os dados obtidos sugerem que apesar do conservadorismo do número diploide, as variações na microestrutura dos cromossomos encontradas entre as populações reforçam a ideia da existência de espécies crípticas. Os resultados aqui apresentados, ainda que para poucas populações analisadas, indicam que o aparente conservadorismo morfológico desses animais tem mascarado diferenças genéticas, as quais podem assumir papel significativo no processo de especiação dentro do grupo.

Suporte financeiro: CAPES, CNPq, Fapesp, UESB.

## Análise citogenética clássica em três espécies de serpentes (Squamata: Ophidia) coletadas em áreas de Caatinga baiana

Jesus Silva, F<sup>1</sup>; Figueredo, MS<sup>1</sup>; Garcia, C<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, UESB, Jequié, BA.

*silva.nando13@hotmail.com*

**Palavras-chave:** Citogenética animal, Serpentes, Bandamento C, RONS, Caatinga.

As serpentes, pertencentes à infraordem Ophidia, compreende um grupo de vertebrados ápodes, de corpo alongado e ampla distribuição pelos trópicos. Atualmente, esses animais encontram-se alocados em 19 famílias pelo mundo, sendo nove ocorrentes no Brasil. Entretanto, existe uma escassez de estudos envolvendo o grupo, principalmente devido à dificuldade de coleta e manutenção desses organismos. Do ponto de vista citogenético, poucos são os trabalhos envolvendo os ofídios, e a maioria existente apresentam dados para somente o número e a morfologia cromossômica. Contudo, é sabido que embora existam variações do número cariotípico, há uma predominância equivalente a 36 cromossomos e presença de sistemas cromossômicos sexuais do tipo ZZ/ZW. Com base nesse panorama, o presente trabalho objetivou, por meio de uma abordagem citogenética clássica, caracterizar duas espécies de serpentes provenientes do município de Jequié: *Xenodon merremii* (N=1) e *Epicrates assisi* (N=1) e uma subespécie do município de Contendas do Sincorá: *Crotalus durissus cascavella* (N=1). Para a determinação morfológica e numérica dos cromossomos foi aplicada a coloração convencional com giemsa e o estudo das regiões organizadoras de nucléolo (RONS) e de heterocromatina constitutiva, foram baseados na impregnação por nitrato de prata e bandamento C, respectivamente. O espécime *X. merremii* apresentou  $2n=30$  cromossomos, com constituição cariotípica de 16 macrocromossomos meta e submetacêntricos e 14 microcromossomos exclusivamente metacêntricos. Já os espécimes *E. assisi* e *C. d. cascavella* apresentaram  $2n=36$  cromossomos com constituição cariotípica de 16 macrocromossomos meta, submeta e subtelocêntricos e 20 cromossomos acrocêntricos, em sua maioria. O bandamento C revelou blocos heterocromáticos nas regiões pericentroméricas da maioria dos microcromossomos e na região intersticial de um par de macrocromossomos submetacêntricos em *X. merremii*. Em *E. assisi* esses blocos foram encontrados nas regiões pericentroméricas de alguns macrocromossomos e na maioria do microcromossomos. Já para *C. d. cascavella*, foram encontrados BC<sup>+</sup> nas regiões teloméricas, pericentroméricas e intersticial de alguns macrocromossomos e nas regiões pericentroméricas da maioria dos microcromossomos. As RONS mostraram-se múltiplas nas espécies de *X. merremii* e *E. assisi*, localizando-se na porção terminal de dois pares de microcromossomos. Já *C. d. cascavella* apresentou essas regiões simples, situadas na porção terminal de um par de microcromossomos. Os resultados apresentados reforçam a ideia de conservadorismo do número macroestrutural para o grupo, e uma evolução mais dinâmica nos microcromossomos e os padrões de distribuição da heterocromatina constitutiva e das RONS são aqui amostrados como inéditos para as espécies estudadas, servindo como fonte de informações para o entendimento evolutivo do grupo.

Suporte financeiro: CAPES, CNPq, UESB

## Análise *in silico* de genes mitocondriais da ordem Lepidoptera para análises filogenéticas

Rocha, PKL<sup>1</sup>; Batista, MVA<sup>2</sup>; Paiva, SSL<sup>3,4</sup>; Moraes, MA<sup>4</sup>; Balbino, VQ<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual da Paraíba, UEPB, Paraíba, PB. <sup>2</sup>Universidade Federal de Sergipe, UFS, Sergipe, SE. <sup>3</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Pernambuco, PE. <sup>4</sup>Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Pernambuco, PE

patykeyth@gmail.com

**Palavras-chave:** Filogenia, Lepidópteros, Marcador Molecular, Metagenoma, Sinal Filogenético

Vários trabalhos com a finalidade de elucidar a evolução da ordem Lepidoptera têm sido realizados baseados na morfologia e em dados moleculares. Nesse último, destacam-se as pesquisas com o DNA mitocondrial devido ao seu alto poder de resolução filogenética. Nesse trabalho analisamos as sequências dos 13 genes mitocondriais e das duas regiões ribossômicas de 96 lepidópteros com a finalidade de identificar a que melhor representa a filogenia da ordem. Para isso, as sequências dos genes de 96 Lepidoptera foram recuperadas no banco de dados do NCBI. Realizou-se um alinhamento para cada um dos 15 genes no MEGA v.6 usando os parâmetros *default* do MUSCLE. Foi construído um gráfico de entropia para cada gene utilizando o programa DAMBE. As regiões com valores de entropia acima de um foram retiradas dos alinhamentos, pois consistiam de regiões com grande divergência entre as espécies. Foi calculada a porcentagem dos sítios conservados, variáveis, informativos de parcimônia e *singletons* utilizando o programa MEGA v.6. Foi realizado teste de sinal filogenético utilizando o programa Treepuzzle com o modelo HKY e 10.000 para o número de quartetos. Os genes que obtiveram valores do quarteto > 90 foram considerados com ótimo sinal filogenético; entre 70 e 90 foram considerados bons e os < 70 foram considerados com baixo sinal filogenético. Foi realizado ainda o teste de saturação das sequências pelo programa DAMBE utilizando a estatística de Xia et al. e gerados gráficos de transição e transversão pela distância genética. Como resultado do teste de sinal filogenético, identificamos 11 genes com ótimo sinal filogenético, três com sinal bom e apenas um com sinal filogenético baixo. Pelo teste de saturação observamos que as sequências apresentavam baixo índice de saturação, sendo todas consideradas para as análises filogenéticas. Dentre os genes, destacaram-se o COX1 e ND5 com os melhores valores de sinal filogenético, elevado número de sítios informativos de parcimônia e baixo índice de saturação. O gene menos indicado para análises filogenéticas da ordem foi o ATP8, pois apresentou baixo sinal filogenético, número de sítios variáveis muito elevado e valor de estatística de Xia et al. mais baixo que muitos genes. Os dados contribuem para as pesquisas de análise filogenética da ordem Lepidoptera. Esperamos obter a partir de poucas regiões informativas das sequências de lepidópteros a mesma robustez em análises filogenética da ordem que se é obtida a partir de sequências de DNA mitocondriais completas, contudo com menos custo computacional e de bancada.

Suporte Financeiro: FACEPE

## Caracterização dos tipos de microssatélites desenvolvidos a partir de biblioteca enriquecida para a espécie *Canthon staigi* (Scarabaeidae, Coleoptera)

Ferreira-Neto, CA<sup>1,2</sup>; Amorim, IC<sup>1,2</sup>; Cruz, GAS<sup>2</sup>, Balbino, VQ<sup>1</sup>, Moura, RC<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, PE; <sup>2</sup>Universidade de Pernambuco, UPE, Recife, PE

ritamoura.upe@gmail.com

**Palavras-chave:** DNA repetitivo, SSR, elemento de transposição, *Canthon staigi*, Insecta

A família Scarabaeidae é composta por cerca de 27.000 espécies, das quais aproximadamente 1.800 ocorrem no Brasil. Algumas de suas espécies têm um importante papel ecológico, pois são responsáveis pela realocação de material orgânico, como fezes animais, a exemplo de *Canthon staigi*, considerada bioindicador ambiental. Esta espécie tem ampla distribuição sendo encontrada em ambientes de Mata Atlântica, restinga e brejos de altitude. Dada sua importância ecológica, estudos moleculares em *C. staigi* são fundamentais para entender a constituição do seu genoma, bem como a estrutura genética das populações distribuídas nestes diferentes ambientes. Neste sentido, sequências de microssatélites (SSR) são uma ferramenta informativa para análises desta natureza, uma vez que estão presentes em todos os genomas eucariotos em regiões codificantes e mais frequentemente em não codificantes. Além disso, apresentam maior taxa de mutação quando comparadas a outras regiões do genoma. O objetivo deste estudo foi desenvolver uma biblioteca enriquecida de microssatélites para futuras análises de estrutura genética populacional. A biblioteca foi construída a partir do genoma total de *C. staigi* através do isolamento de sequências repetitivas ricas em microssatélites. Em seguida, as sequências obtidas foram sequenciadas e posteriormente analisadas quanto à identificação de sequências SSR. Foram identificados 45 SSR, com 41 motivos diferentes, dentre eles mononucleotídeos, tetranucleotídeos, pentanucleotídeos e hexanucleotídeos, com prevalência dos dois últimos. As sequências variaram de duas a 10 repetições, apresentando uma riqueza A/T de 76,78%, o que é comum nos eucariotos. Os motivos mais frequentes foram: (A)<sub>n</sub>, (AATT)<sub>n</sub>, (CTTTC)<sub>n</sub>, (TTGTG)<sub>n</sub> e (TGTGCA)<sub>n</sub>. Dentre os motivos encontrados, foi identificado apenas um tetranucleotídeo, que é o tipo menos frequente em artrópodes. Em relação aos pentanucleotídeos foram encontradas 33 sequências, sendo estas as mais frequentes em invertebrados, as quais estão presentes prevalentemente em regiões não gênicas. Também foram observados oito sequências de hexanucleotídeos, sendo as sequências (TTAAAA)<sub>n</sub> e (TGTGCA)<sub>n</sub> associadas ao elemento transponível *Tigger* da família Tc1/mariner. Dentre os eucariotos, os elementos transponíveis representam uma porção significativa do DNA repetitivo, a exemplo da família Tc1/Mariner, a mais frequente nos genomas de insetos. Essas sequências repetitivas podem estar associadas à regulação desses elementos transponíveis da mesma forma que outras sequências de microssatélites estudadas regulam processos de expressão gênica. De acordo com os dados obtidos, foi observado que as sequências de microssatélites encontradas na porção repetitiva do genoma de *C. staigi* seguem o padrão já conhecido para o restante dos artrópodes, com prevalência de penta e hexanucleotídeos, além de alguns dos SSRs encontrados terem a tendência de associação com elementos de transposição.

Apoio financeiro: CNPq, FACEPE e CAPES

## Análise preliminar da estrutura genética de três populações da espécie *Canthon staigi* (Scarabaeidae) ocorrentes no Nordeste brasileiro.

Ferreira-Neto, CA<sup>1,2</sup>; Amorim, IC<sup>1,2</sup>; Cruz, GAS<sup>2</sup>; Moura, RC<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, PE; <sup>2</sup>Universidade de Pernambuco, UPE, Recife, PE

ritamoura.upe@gmail.com

**Palavras-chave:** ISSR, Fst, seleção de *primers*, diversidade genética, heterozigosidade esperada

A espécie *Canthon staigi* é destacada pelos serviços ambientais prestados, por sua ampla distribuição em diferentes ambientes, tais como floresta Atlântica, brejos de altitude e restingas, além de ser considerada bioindicadora, sendo usada como referência em avaliações de efeitos ecológicos causados por mudanças ambientais. Portanto, o objetivo deste trabalho foi realizar uma análise preliminar da estrutura genética a partir de três populações de *C. staigi* baseada em marcadores ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*). Inicialmente, espécimes adultos de *C. staigi* foram coletados nas populações de Itamaracá-PE (ITA), Pesqueira-PE (PES) e Mamanguape-PB (MA), sendo ambientes de restinga, brejo de altitude e Mata Atlântica, respectivamente. A princípio, foi realizada uma seleção de *primers* ISSR sendo testados 49 *primers* dos quais um conjunto de 16 apresentaram amplificação com bandas nítidas. Estes 16 *primers* foram aplicados em uma amostragem composta por 09 indivíduos, sendo três de cada uma das populações coletadas. Para seleção dos *primers* mais informativos os seguintes parâmetros foram utilizados: número total de bandas amplificadas; índice de diversidade genética (Dg); PIC (*Polymorphism Information Content*), MI (*Marker Index*) e RP (*Resolution Power*). Baseado nestes parâmetros, foram obtidos 12 *primers* informativos dos quais quatro foram selecionados e utilizados nas populações. Posteriormente, uma análise preliminar da estrutura genética das populações foi realizada a partir do cálculo dos índices de diversidade genética (Dg), heterozigosidade esperada (*He*) e diferenciação genética (Fst). Foram genotipados 20 indivíduos de cada população, e os dados obtidos foram polarizados em uma matriz de dados binários (presença e ausência). Os resultados acerca da estrutura genética das populações apontam maior nível de Dg para ITA e MA e menor para PES sendo os valores 90.4, 90.4 e 86.5 %, respectivamente. No que diz respeito a *He* foram obtidos baixos índices, 0.25363, 0.23808 e 0.25059 para ITA, PES e MA, respectivamente. Adicionalmente, foi observado Fst global de 0.0136 indicando pouca diferenciação genética entre todas as populações. Além disso, quando analisado as populações em par quanto aos índices Fst, MA e ITA apresentaram maior valor sendo 0.019 enquanto que, para ITA e PES foi obtido o menor índice 0.0047. De uma maneira geral, mesmo sendo observado diferentes índices de estruturação genética entre as populações, estes apontam em todas as correlações pouca estruturação genética, indicando haver fluxo gênico histórico entre as populações analisadas. No intuito de melhor elucidar a estrutura genética das populações de *C. staigi* ocorrentes nos diferentes ambientes estudados, estão em andamento análises adicionais a partir de um maior número de populações assim como de *primers* já selecionados.

Apoio financeiro: CNPq, FACEPE e CAPES

## Análise Morfométrica geométrica alar e genética de dois exemplares do complexo longipalpis do Nordeste do Brasil

Aragão, NC<sup>1</sup>; Costa-Filho CRL<sup>1</sup>; Freitas MTS<sup>1</sup>; Silva LG<sup>1</sup>; Balbino, VQ<sup>1</sup>; Marcondes, CB<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Pernambuco, PE. <sup>2</sup>Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Santa Catarina, SC

nadbr2@yahoo.com.br

**Palavras-chave:** Vetor da Leishmaniose Visceral Americana, genética de insetos Vetores, morfometria geométrica alar, complexo de espécies, *Lutzomyia longipalpis*

A Leishmaniose Visceral Americana (LVA) é uma doença parasitária mundialmente importante e seu principal vetor, o flebotômico *Lutzomyia longipalpis* Lutz e Neiva 1912, é considerado um complexo de espécies. A identificação dos membros desse complexo poderá trazer mudanças para o perfil epidemiológico da LVA e possibilitará o reconhecimento em regiões geográficas onde possam existir vetores principais ou secundários, como já ocorre com *Lutzomyia longipalpis* na Venezuela e *L. cruzi* no Brasil. O nosso trabalho buscou associar a morfometria geométrica alar e o marcador nuclear *period* para caracterizar espécies crípticas de *L. longipalpis* do Ceará e de Pernambuco conforme o padrão morfológico de uma ou duas manchas abdominais proposto por Mangabeira em 1969. As coletas dos exemplares foram realizadas em março de 2012 em Sobral-CE e setembro de 2013 em Bodocó-PE usando armadilhas CDC. Os machos foram separados quanto ao número de manchas abdominais e para as análises de morfometria geométrica alar foram usados os programas TpsDig, TpsRwl, TpsUtil e MorphoJ, além de ter sido aplicado o teste de normalidade Shapiro-Wilk. Para a análise genética, foram realizadas extrações e amplificações de um fragmento de 525pb do gene *period* e posterior sequenciamento e análise com os programas MEGA e PhyML usando o modelo evolutivo Kimura dois parâmetros (K2P). Foram analisadas 73 asas direitas, 36 de indivíduos 1S (17 de Bodocó e 19 de Sobral) e 37 de indivíduos 2S (19 de Bodocó e 18 de Sobral). A distância de Mahalanobis encontrada na análise de variáveis canônicas sem alometria entre Bodocó 1S e 2S foi de 3,3202 e entre Sobral 1S e 2S foi de 3,3796 e para ambas, o Pvalue foi de <0,0001. O teste de bootstrap com mil repetições indicou uma reclassificação correta para, respectivamente, 64,70% e 68,42% dos indivíduos 1S e 2S de Bodocó, enquanto para Sobral os valores para 1S e 2S foram de 73,68% e 72,22%. A análise do gene *period* para 112 amostras resultou em uma árvore filogenética do tipo Neighbor Joining em que se verificou a existência de clados monofiléticos entre os indivíduos 1S e 2S com um valor de 64% de bootstrap. Dessa forma, verifica-se que a morfometria geométrica alar sugere a clusterização em separado dos dois morfotipos estudados, corroborando o resultado obtido na análise do gene *period*.

Financial Support: FACEPE

## PHENOTYPIC AND GENOTYPIC VARIATIONS AMONG THREE ALLOPATRIC POPULATIONS OF *Lutzomyia* (*Nyssomyia*) *umbratilis*, MAIN VECTOR OF *Leishmania* (*Viannia*) *guyanensis*

Freitas MTS<sup>1</sup>; Gomes LS<sup>1</sup>; Figueiredo-Junior CAS<sup>1</sup>; Aragão NC<sup>1</sup>; Pessoa FAC<sup>2</sup>; Balbino VQ<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Pernambuco; <sup>2</sup>Instituto Leônidas e Maria Deane, Fiocruz Amazônia, Manaus, Amazonas

*moisestsf@hotmail.com*

**Keywords:** *Lutzomyia umbratilis*, Complex of species, Phylogenetic analyzes

*Lutzomyia* (*Nyssomyia*) *umbratilis* is the main vector of the parasite *Leishmania* (*Viannia*) *guyanensis* in South America, one of the species involved in American Tegumentary Leishmaniasis. In Brazil, there are records of this vector in the Amazon region and an isolated population in the state of Pernambuco, Northeastern Brazil. In this study, samples of *L. (N.) umbratilis* from Rio Preto da Eva, Manacapuru (respectively North and South Amazonas River, Amazonas), and Recife (isolated population in remnants of the Brazilian Atlantic rain forest, Pernambuco) were studied to assess the phylogeographic structure. The samples were processed in order to obtain sequences corresponding to Cytochrome Oxidase I (COI) mitochondrial gene. In parallel, the right wing of some specimens of each population were dissected, slide mounted, photographed and analyzed to depict the results graphically for geometric morphometric studies. The phylogenetic analysis showed the presence of two distinct monophyletic clades, one consisting of Recife and Rio Preto da Eva, and another formed with Manacapuru samples. The neutrality tests were negative and significant for all populations indicating a deviation from the neutral model favoring the hypothesis that these populations are undergoing a recent expansion. The indices of inter-population divergence were high in the comparison between Manacapuru population with Recife and Rio Preto da Eva populations. The results obtained indicate that the Amazon and Atlantic forests environment may affect the wing shape of Amazonian and northeastern populations and confirm the existence of a *L. (N.) umbratilis* species complex.

Financial Support: CNPq

## Análise citogenômica do cromossomo B de *Dichotomius sericeus* (Coleoptera): Evidências de sua origem.

Amorim, IC<sup>1</sup>; Milali, D<sup>2</sup>; Cabral-de-Mello, DC<sup>2</sup>; Moura, RC<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidade de Pernambuco, UPE, Recife, PE; <sup>2</sup>Instituto de Biociências, UNESP, Rio Claro, SP

ritamoura.upe@gmail.com

**Palavras-chaves:** microdissecção, pintura cromossômica, hibridização *in situ* fluorescente, hibridização cruzada, origem intraespecífica do B.

Cromossomos B foram observados em mais de 500 espécies animais, contudo as principais questões relativas à sua origem, na maioria das espécies, permanecem sem resposta. Neste trabalho, foi analisada a origem do cromossomo B de *Dichotomius sericeus* a partir da hibridização *in situ* fluorescente com sonda cromossômica do B, obtida pela microdissecção. A pintura cromossômica foi realizada em indivíduos com um ou dois cromossomos B de *D. sericeus*, pertencentes às populações de Igarassu e Camaragibe (Mata Atlântica) e Caruaru (Brejo de altitude). Além disso, também foi realizada a hibridização cruzada do B em células iniciais de dez espécies do gênero *Dichotomius*, sendo *D. sericeus* utilizado como controle positivo. As espécies analisadas foram coletadas em diferentes áreas do estado do Ceará, Pernambuco e São Paulo - Brasil, através de armadilhas de solo "pitfall". Em *D. sericeus*, a pintura cromossômica revelou que sequências do cromossomo B apresentam homologia com sequências das regiões pericentroméricas de todos os autossomos e com o X. Além disso, que todos os B, das diferentes populações analisadas e em indivíduos com um ou dois B, apresentaram composição molecular semelhante. A hibridização cruzada revelou que o cromossomo B de *D. sericeus* não apresenta composição molecular semelhante com nenhum cromossomo das nove espécies analisadas, incluindo as que pertencem ao mesmo complexo específico (*D. laevicollis* e *D. aff sericeus*), mesmo subgênero (*D. geminatus*, *D. semisquamosus* e *D. nisus*) ou mesmo gênero (*D. bos*, *D. mormon*, *D. depressicollis*, *D. mundus*). Os resultados sugerem que o B, provavelmente, se originou uma única vez intraespecificamente e, possivelmente antes da separação dos fragmentos de Mata Atlântica e de Brejo de Altitude.

## Seleção de *primers* de ISSR para avaliação da diversidade genética de besouros do gênero *Dichotomius* (Scarabaeidae) ocorrentes no Nordeste.

Amorim, IC<sup>1,2</sup>; Félix, AP<sup>2</sup>; Silva, TBL<sup>2</sup>; Cruz GAS<sup>2</sup>; Moura, RC<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, PE; <sup>2</sup>Universidade de Pernambuco, UPE, Recife, PE  
*ritamoura.upe@gmail.com*

**Palavras-chave:** *Dichotomius*, *Polymorphism Information Content*, *Marker Index*, *Resolution Power*, ISSR

Os besouros do gênero *Dichotomius* são popularmente conhecidos como “rola-bosta”, devido ao hábito de rolar bolas com matéria orgânica em decomposição para alimentação e posturas. Algumas espécies deste gênero, como *D. sericeus*, *D. sp* (espécie nova) e *D. geminatus*, são indicadores de distúrbio ambiental, pois sua abundância é diretamente influenciada pelo *status* de conservação do ambiente. O objetivo deste trabalho foi realizar seleção de *primers* ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*) para as espécies *D. sericeus*, *D. sp* e *D. geminatus*, visando apoiar futuros estudos de genética populacional. Foram coletados espécimes de *D. sericeus* nas populações Aldeia, RECD e USJ (Pernambuco), *Dichotomius sp* em Aldeia e PEVS (Pernambuco) e Guaribas (Paraíba), e espécimes de *D. geminatus* em RECD e IPA (Pernambuco) e Guaribas (Paraíba). Inicialmente, 28 *primers* ISSR foram testados em um indivíduo de cada espécie em pauta. Em seguida, para a seleção de *primers*, foram utilizados 11 que apresentaram bandas nítidas no teste inicial em um total de 27 amostras, sendo nove para cada espécie (três de cada uma das populações). Após genotipagem dos indivíduos, uma matriz de dados binários (presença e ausência) foi construída e a capacidade informativa de cada *primer* foi definida baseada nos seguintes parâmetros: número total de bandas amplificadas; índice de diversidade genética (Dg); PIC (*Polymorphism Information Content*), MI (*Marker Index*); RP (*Resolution Power*). Os *primers* utilizados revelaram altos níveis de polimorfismo com valor de Dg global igual a 97.87%, 100% e 94.39%, para *D. sericeus*, *D. sp* e *D. geminatus*, respectivamente. A quantidade de bandas amplificadas por *primer* variou entre quatro e 36. Em *D. sericeus*, foram encontrados os valores 0.228-0.351 (PIC); 1.601-3.268 (MI); 3.000-8.000 (RP). Adicionalmente, os dados da correlação de Pearson (P) foram: PIC e MI 0.916; MI e RP 0.395; PIC e RP 0.594. Em relação a *D. sp* foi observado 0.324-0.461 (PIC); 4.981-7.084 (MI); 3.750-22.571 (RP), e P: PIC e MI 1.000; MI e RP 0.148; PIC e RP 0.150. Quanto a *D. geminatus*, os índices foram 0.306-0.450 (PIC); 1.313-2.577 (MI); 2.000-5.714 (RP), e P: PIC e MI 0.945; MI e RP 0.755; PIC e RP 0.737. A partir dos resultados obtidos, foi observado que os índices estatísticos analisados foram adequados para a seleção dos *primers* mais informativos, uma vez que, os parâmetros PIC e MI que são reconhecidamente mais eficientes nesta etapa devido a sua relação direta com o Dg, apresentaram correlação positiva. Baseado principalmente no número de bandas amplificadas e índices de polimorfismo, podem ser destacados seis *primers* para *D. sericeus* e *D. sp* e cinco para *D. geminatus* como os mais informativos. Contudo, o conjunto de dados obtidos indica que todos os *primers* testados para as três espécies são informativos, sendo, portanto indicados para futuras análises de diversidade genética populacional.

Apoio financeiro: CNPq, FACEPE, CAPES

## Diferenciação populacional entre rebanhos bovinos Holandês e Girolando baseado em polimorfismos do gene Lactoperoxidase

Luna, EPM<sup>1</sup>; Araújo, MDS<sup>1</sup>; Noronha, CT<sup>1</sup>; Santoro, KR<sup>1</sup>; Oliveira, JCV<sup>2</sup>; Guido, SI<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns - PE; <sup>2</sup>Instituto Agronômico de Pernambuco-IPA, Estação Experimental de Arcoverde - PE; <sup>3</sup>Instituto Agronômico de Pernambuco-IPA, Estação Experimental de São Bento do Uma - PE

*edyjoelson@hotmail.com*

**Palavras-chave:** Diversidade, genética populacional, marcador molecular

O conhecimento da constituição genética de uma população, é essencial conhecer seus genótipos, caracterizá-la, determinar regiões de conservação e polimorfismo, além de conhecer as que sofreram seleção. A raça Holandesa tem sofrido maior pressão de seleção e há mais tempo quando comparada a raça Girolando, tanto para produção e composição do leite quanto resistência. O gene Lactoperoxidase é altamente polimórfico e está associado à resistência a doenças, principalmente a mastite. Objetivou-se avaliar as diferenças genéticas populacionais entre as raças a partir de polimorfismos desse gene em rebanhos distintos. Foram utilizados 119 animais pertencentes ao Instituto Agronômico de Pernambuco, dos quais 37 da raça Holandesa e 82 da raça Girolando (5/8 H-G), localizados respectivamente em São Bento do Una e Arcoverde. Foram colhidas amostras de sangue total para a extração de DNA por meio do Kit Axy Prep TM Blood Genomic DNA Miniprep Kit® (Axygen). Utilizou-se a técnica da PCR-SSCP para estudar os polimorfismos. A reação da PCR conteve: primers, Forward: 5'- GTACTTCAAGCACGCCAAGG -3' e Reverse: 5'- CGGTAAGGGCTGTTTTTCATC -3', 5 µL de tampão 1X, 5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,4 mM de dNTP, 0,2 unidades de taq DNA polimerase e 100 ng de DNA, submetidos aos seguintes parâmetros da PCR: desnaturação inicial 5' a 94°C, 35 ciclos, 45" a 94°C, 30" a 56,4°C e 30" a 72°C e extensão final por 30" a 72°C. O produto foi submetido à eletroforese em gel desnaturante de poliacrilamida a 8% por 1,5 horas, corado e fotodocumentado. A variabilidade genética foi avaliada pelas frequências genotípicas, Equilíbrio de Hardy-Weinberg, Heterozigosidade Esperada (He) e Observada (Ho), índice de diversidade padrão, tanto dentro como entre rebanhos, pelo software Arlequin versão 3.5.1.2. Observaram-se em ambos os rebanhos três genótipos: aa, bb, ac. As frequências no rebanho Girolando foram: 63%, 24,39%, 10,97%, para o rebanho Holandês foram: 81,08%, 10,81%, 8,11%, respectivamente. O alelo aa se destacou por estar em maior frequência em ambos os rebanhos. O cálculo do equilíbrio de Hardy-Weinberg demonstrou que ambos os rebanhos não estava, em equilíbrio, evidenciando a influência de fatores como migração, seleção, mutação e deriva gênica. Nos rebanhos avaliados a (He) apresentou-se superior a (Ho): Girolando He=0,4929 e Ho=0,1097, Holandês He=0,3258 e Ho=0,1081. Entretanto, os animais Girolando apresentaram maior variabilidade, possivelmente em virtude de ser uma raça sintética composta do cruzamento entre animais zebuínos (Gir) e taurinos (Holandês). A análise de diferenciação genética, Fst=0,04870 foi significativo (p<0,05), provavelmente devido ao efeito do fluxo gênico pelo melhoramento, uma vez que as populações apresentam composição genética semelhante. Observou-se maior diversidade genética no rebanho Girolando (5/8 Holandês-Gir), possivelmente devido ao menor tempo de seleção da raça e genes de origem da raça Gir.

Apoio financeiro: CNPq (505912/2008-2).

## Associação dos polimorfismos do gene HSP70.1 com a produção leiteira de um rebanho Holandês na região semiárida de Pernambuco

Luna, EPM<sup>1</sup>; Araújo, MDS<sup>1</sup>; Noronha, CT<sup>1</sup>; Santoro, KR<sup>1</sup>; Oliveira, JCV<sup>2</sup>; Guido, SI<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns - PE; <sup>2</sup>Instituto Agronômico de Pernambuco-IPA, Estação Experimental de Arcoverde - PE; <sup>3</sup>Instituto Agronômico de Pernambuco-IPA, Estação Experimental de São Bento do Uma - PE

*edyjoelson@hotmail.com*

**Palavras-chave:** Polimorfismos, genética molecular, bovinos leiteiros

Estresse por calor é um dos fatores que contribuem para a redução na produção de leite em todo o mundo, especialmente em regiões semiáridas. No Brasil, essa região é caracterizada por chuvas irregulares, secas periódicas, altas temperaturas, alta evaporação e baixa umidade relativa. A seleção genética dos animais mais adaptados ao estresse por calor é uma chance de reduzir esses impactos, e consequentemente, promover melhores resultados de produção. A família das HSPs (Proteína do Choque Térmico) é responsável por uma grande variedade de processos celulares, destacando-se a HSP70.1 que tenha sido indicada como responsável pelo potencial de resistência a altas temperaturas. Estudos demonstram que polimorfismos associados a este gene têm associações diretas com a variabilidade produtiva em diferentes raças, composição do leite e adaptabilidade ao estresse térmico. Neste aspecto, o objetivo deste trabalho é identificar polimorfismos do gene HSP70.1 e sua associação com a produção de leite de um rebanho Holandês na região semiárida de Pernambuco. Foram utilizadas 60 vacas holandesas adultas (34.227 registros), pertencentes ao Instituto Agronômico de Pernambuco, localizado em São Bento do Una. O DNA extraído de amostras de sangue total foi submetido à amplificação, utilizando os iniciadores 5' -ford-GTCGCCAGGAAACCAGAGAG- 3' e reversa 5' -GGAACACCCCTACGCAGGAG- 3'. Subsequentemente, o material foi submetido à digestão com enzimas de restrição ECORII a 37 °C, e os produtos foram visualizados após electroforese em gel de poliacrilamida a 8 %. A associação estatística foi realizada pelo PROC MIXED (SAS 9.3) utilizando um modelo misto. Foram verificados nove padrões de polimorfismos: A, B, C, D, E, F, G, H, I. O melhor resultado (média: 26,73 ; P <0,05) foi observado para os animais que apresentaram o padrão B, seguido pelos que apresentaram os padrões G e A, (média = 25,00 ; P > 0,05 ), que não diferiram estatisticamente. Os padrões encontrados podem auxiliar na seleção de animais com maior tolerância ao estresse térmico por calor, uma vez que foram identificados polimorfismos associados a maior produção de leite, no entanto, pesquisas adicionais são necessárias. Os resultados podem auxiliar na seleção de vacas leiteiras com maior termotolerância e produção de leite através de marcadores moleculares, possibilitando uma melhoria no desempenho dos rebanhos.

Apoio financeiro: FACEPE (1287-5.04/12), CNPq (505912/2008-2).

## Variabilidade Genética em Populações de *Melipona Mondury* Smith, 1863 (Hymenoptera: Apidae, Meliponina) no Estado da Bahia por Meio de Marcadores Microssatélites

Mendes, SS<sup>1</sup>; Viana, MVC<sup>2</sup>; Waldschmidt, AM<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Discente de Graduação em Ciências Biológicas, UESB, Jequié, BA. <sup>2</sup>Mestre em Genética, Biodiversidade e Conservação, UESB, Jequié, BA. <sup>3</sup>Docente do Departamento de Ciências Biológicas - DCB, UESB, Jequié, BA

*amwalds@gmail.com*

**Palavras-chave:** Abelhas-sem-ferrão, estruturação genética, microssatélite, urucu-amarela, fragmentação

Os polinizadores são agentes fundamentais para o equilíbrio do ecossistema terrestre, e as abelhas constituem o principal grupo polinizador responsável por cerca de 30% a 90% da polinização de toda flora nativa. Pertencentes à ordem Hymenoptera e superfamília Apoidea, a subtribo Meliponina engloba as abelhas indígenas sem-ferrão, distribuídas por todas as regiões tropicais do mundo, bem como as regiões subtropicais do Hemisfério Sul. Dentre este diverso grupo a *Melipona mondury*, também conhecida como urucu-amarela, destaca-se por ser um importante polinizador de biomas de Mata Atlântica, tendo sua ocorrência desde a Bahia até o estado de Santa Catarina. O objetivo desse trabalho foi conhecer a variabilidade genética das populações de *Melipona mondury* no estado da Bahia, por meio de marcadores microssatélites e contribuir para um melhor entendimento de como as populações da espécie estão estruturadas no estado. Foram utilizadas 59 colônias advindas de oito localidades do estado e o DNA genômico foi extraído e amplificado com seis *loci* microssatélites. As populações analisadas apresentaram 2,17 de diversidade alélica e 100% dos *loci* foram polimórficos, variando entre 2 e 3 alelos. Os valores de  $H_e$  (0,4195) foram maiores do que  $H_o$  (0,2625) e o teste de  $X^2$  apresentou desvios no equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $p < 0,005$ ) para cinco dos seis *loci* analisados. A AMOVA mostrou que 81% da variação é intrapopulacional sendo apenas 19% interpopulacional, estes resultados foram confirmados pelos valores de  $F_{ST}$  (0,19), que indicaram uma estruturação moderada. Foi observado um alto índice de endogamia, segundo FIS (0,32), sendo reforçado pelos baixos valores de heterozigotos observados. A análise por UPGMA mostrou a formação de dois diferentes grupos, no entanto os baixos valores de *bootstrap* ressaltaram a necessidade de uma maior amostragem para que análises mais precisas possam ser realizadas. Desta maneira, pode-se concluir que as populações analisadas podem estar sofrendo com ações antrópicas sobre o seu habitat natural, tendo como causa o crescente desmatamento levando a fragmentação de habitats, intensificação da agricultura, uso indiscriminado de agrotóxicos e a intensa ação de melieiros.

Apoio Financeiro: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (Fapesb) e Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB).

## Descrição cariotípica de duas espécies do gênero *Frieseomelitta* (Hymenoptera, Apidae) da região sudoeste da Bahia

Santos, JM<sup>1</sup>; Waldschmidt, AM<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, UESB, Jequié, BA; <sup>2</sup>Departamento de Ciências Biológicas, UESB, Jequié, BA

amwalds@gmail.com

**Palavras-chave:** Abelhas sem ferrão, citogenética, heterocromatina, cromossomo, Bandamento

As abelhas indígenas sem ferrão pertencem à família Apidae, subtribo Meliponini, juntamente com as abelhas com ferrão, formigas e vespas. Estas abelhas possuem um importante papel nos ecossistemas, polinizando espécies vegetais nativas e cultivadas, atuando na conservação da fauna associada a estas. O gênero *Frieseomelitta* está inserido dentro do grupo Meliponini, e é composto por 16 espécies, dentre estas, seis possuem ocorrência na Bahia. A citogenética constitui uma importante ferramenta de distinção de espécies morfológicamente semelhantes, além de contribuir para trabalhos de filogenia e citotaxonomia. O presente trabalho teve como principal objetivo descrever citogeneticamente duas espécies do gênero *Frieseomelitta*, a partir da técnica de Bandamento C. As preparações foram obtidas a partir da técnica de extração do gânglio, descrita por Imai (1988) e a Bandamento C seguiu o protocolo de Sumner (1990), com modificações no tempo do Bário. Os resultados apresentaram para as duas espécies um número cromossômico de  $2n=30$  para as fêmeas, resultado constante em outras espécies deste gênero (ROCHA *et al.*, 2003). A partir do tratamento com Bandamento C, foram observadas as seguintes fórmulas cariotípicas: *Frieseomelitta* sp1  $2K=10M^e+14A+6A^M$  e *Frieseomelitta* sp2  $2K=6M^e+4M+2M^t+14A+4A^M$ . Além disso, foi descoberto a ocorrência de um cromossomo incomum para o gênero, com distribuição da heterocromatina nas regiões centroméricas e teloméricas, denominado  $M^t$ . Esses resultados são relevantes, pois, mostram que mesmo sendo coletadas num mesmo local, as espécies divergiram citogeneticamente e isso será importante para entender a evolução do cariótipo do gênero.

Apoio financeiro: UESB, Fapesb