



**MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
SECRETARIA DE BIODIVERSIDADE E FLORESTAS
DIRETORIA DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE
PROJETO ESTRATÉGIA NACIONAL DE DIVERSIDADE BIOLÓGICA (BRA 97 G 31)**

**AVALIAÇÃO DO ESTADO DO CONHECIMENTO DA
DIVERSIDADE BIOLÓGICA DO BRASIL
COBIO/MMA – GTB/CNPq – NEPAM/UNICAMP**

GENÉTICA

Versão Preliminar

**LOUIS BERNARD KLACZKO
ROBERTO DONIZETE VIEIRA
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA E EVOLUÇÃO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS - UNICAMP**

2003

ÍNDICE

SUMÁRIO EXECUTIVO	3
EXECUTIVE SUMMARY	9
1. INTRODUÇÃO	15
2. METODOLOGIA	16
3. AMOSTRAGEM	17
4. CITOGENÉTICA	19
5. ISOZIMAS	26
6. GENÉTICA MOLECULAR	33
7. CARACTERÍSTICAS QUANTITATIVAS	39
8. POLIMORFISMOS	43
9. CONCLUSÕES	44
10. REFERÊNCIAS	47
11. AGRADECIMENTOS	489
ANEXO 1: PESQUISADORES QUE PREENCHERAM OS FORMULÁRIOS, ÁREAS DA GENÉTICA EM QUE ATUAM E ORDENS E FAMÍLIAS QUE ESTUDAM	50
ANEXO 2: LISTA SELECIONADA DE REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS FORNECIDAS PELOS PESQUISADORES	53
ANEXO 3: GLOSSÁRIO	64

SUMÁRIO EXECUTIVO

A Genética pode ser didaticamente dividida em cinco áreas de acordo com as abordagens usadas e com o material investigado: a Citogenética; a Genética Molecular; a Genética Bioquímica (Isozimas); Genética Quantitativa (Caracteres Quantitativos) e a Genética de Populações (Polimorfismos).

Para fazer uma avaliação do estado atual do conhecimento sobre a biodiversidade genética no Brasil, foi elaborado um formulário composto de sete fichas. A primeira ficha coleta dados sobre o pesquisador, membros da equipe e instituição. A última é preenchida com as referências bibliográficas do trabalho do grupo. As demais correspondem a cada uma das cinco áreas da Genética.

Em cada uma delas há espaço para colocar os táxons estudados; identificação de Família e Ordem; localidades estudadas; habitats; citação das referências relevantes, e uma breve descrição dos principais resultados e conclusões. Além disto há dois campos para obter informações mais dirigidas, isto é, onde o informante deve selecionar as respostas entre uma série apresentada. Eles são: objetivos e métodos. Para os objetivos buscou-se fazer uma série que aumentasse progressivamente o grau de complexidade da caracterização da variabilidade genética. Por exemplo, nos estudos interespecíficos, podia-se assinalar a caracterização de cada espécie, as comparações entre espécies e as inferências filogenéticas. Para os métodos, buscou-se igualmente fazer uma lista que representasse métodos com complexidade e/ou grau de informação crescentes.

Para a coleta dos dados e teste da adequação do formulário elaborado utilizamos inicialmente os Resumos publicados do 42º Congresso da Sociedade Brasileira de Genética (1996) cujo tema foi Biodiversidade Genética. Deles foram retiradas as informações para preencher 242 fichas no total: 142 de Citogenética; 34 de isozimas; 40 de Genética Molecular; 22 para Caracteres Quantitativos e 4 para Polimorfismos.

Depois de testar o formulário usando os Resumos do Congresso, ele foi enviado a 80 pesquisadores, líderes de grupos de pesquisa no País. A lista de pesquisadores foi elaborada a partir do trabalho prévio com os Resumos verificando os pesquisadores com contribuição na área. Além disto foram pesquisados os Bancos de Dados: “Diretório dos Grupos de Pesquisa no Brasil – versão 2.0” e “Diretório Prossiga”, ambos do CNPq.

No total dos 80 pesquisadores consultados, 33 responderam preenchendo formulários (freqüentemente várias fichas cada um). Aproximadamente 60% das respostas vieram de São Paulo, 10% do Rio Grande do Sul e o restante de Minas Gerais, Rio de Janeiro e Paraná. No total foram preenchidas 106 fichas: 42 de Citogenética; 17 de isozimas; 24 de Genética Molecular; 20

de Caracteres Quantitativos e 3 para polimorfismos. Como foram poucas as fichas obtidas sobre polimorfismo elas não serão discutidas aqui.

Citogenética

Os métodos da Citogenética podem ser divididos em três ou quatro categorias de complexidade e/ou quantidade de informação. Analisando o banco de dados dos Resumos do Congresso da SBG encontramos entre 141 fichas com respostas informativas: 36% correspondendo a trabalhos em que se está obtendo a informação mais simples; 57% com técnicas envolvendo bandeamento (ou similares) que fornecem um grau maior de informação, e 6% com técnicas que têm maior grau de definição (politênicos e hibridização *in situ*). No banco de dados das fichas preenchidas pelos pesquisadores (43) encontramos: 38% usando hibridização *in situ*; 14% analisando cromossomos politênicos; 39% com algum tipo de bandeamento e 12% com cariótipo simples ou contagem dos cromossomos.

Quanto aos objetivos, encontramos 33 resumos ligados ao estudo da variação interespecífica, sendo que 12 buscando fazer inferências filogenéticas e os 21 restantes apenas comparações entre espécies. O estudo da variação intraespecífica ficou caracterizado em 25 resumos, sendo que 18 são descrição da variação intrapopulacional e comparações entre populações, 3 caracterização da variação geográfica e 4 buscando clines. No total, 52% dos trabalhos têm objetivo estritamente descritivo e 17% têm objetivos interpretativos. Nas respostas dadas pelos pesquisadores, 37 fichas estavam ligadas ao estudo da variação interespecífica, sendo que a grande maioria (81%) buscando fazer inferências filogenéticas e apenas uma minoria (19%) se limitava a fazer apenas comparações entre espécies.

Isozimas

Pode-se considerar que, para trabalhos que pretendam medir variabilidade genética, um bom número de locos estudado seja superior a 20. Entre 10 e 20 pode ser visto como razoável e menor que 10, pequeno. Da mesma forma, pode-se admitir que um número de sistemas acima de 20 é excelente, entre 10 e 20 bom, entre 5 e 10 razoável.

Nos 34 Resumos da SBG foi relatado o uso de 132 sistemas enzimáticos, com média de 8,1 por trabalho. Do total, 36% usaram menos de 5 sistemas; 36% entre 5 e 10; e 34% usando mais de 10. O número médio de locos estudados por trabalho foi de 12,1 sendo que 42% dos trabalhos analisaram menos de 10; 32% entre 10 e 20 locos; e 26% mais de 20 locos.

Num total de 17 formulários com respostas válidas dadas pelos pesquisadores foi relatado o uso de 180 sistemas, com média 11,3; sendo que 11% com até 5 sistemas; 33% usando entre 5 e 10; e 50% entre 10 e 20. O número médio de locos estudados por trabalho foi de 20; sendo 9 trabalhos analisando de 10 até 20 (inclusive), e 7 analisaram 20 ou mais locos.

Dos 34 resumos da SBG, 11 tinham por objetivo estudar a variação interespecífica, dos quais apenas 4 pretendiam fazer inferências filogenéticas. Dos 22 resumos restantes, 5 tinham por objetivo a comparação de populações e todos os demais (representando 72%) são apenas descritivos.

Para as respostas dos pesquisadores, dos 17 formulários recebidos, 10 tinham por objetivo estudar a variação interespecífica, dos quais metade pretendia fazer inferências filogenéticas e metade comparações entre espécies. Dos 7 restantes, 5 tinham por objetivo estudar a estrutura de populações, ou buscar clines, ou correlação com variáveis ambientais, enquanto apenas 2 eram apenas descritivos. No total, 40% tinham objetivo basicamente descritivo.

Genética Molecular

A análise dos objetivos nos 40 resumos da SBG revelou que dos 23 que se propunham a estudar a variação interespecífica, 83% eram para inferências filogenéticas. No total 25% tinham objetivos descritivos. Já nos formulários preenchidos pelos pesquisadores os objetivos eram em 75% sobre variação interespecífica, sendo todos para inferências filogenéticas; e 17% tinham objetivos mais descritivos.

Dos 38 resumos com respostas informativas, 53% usaram como método o seqüenciamento, que é a técnica mais sofisticada e informativa da Genética Molecular; 26% trabalharam com RFLP ou microssatélites ou outras técnicas e 24% com RAPD (a menos informativa das técnicas). Dos 24 formulários retornados, 74% usaram o seqüenciamento; 25% RFLP, microssatélites ou outras técnicas; e 4% apenas com RAPD.

Características Quantitativas

Entre os 22 resumos examinados 50% usaram análises estatísticas multivariadas, 27% fizeram experimentos em condições ambientais controladas ou a análise de estirpes endocruzadas. Já entre as 20 respostas dadas pelos pesquisadores, 60% relatavam o uso de análise multivariada e 25% usavam seleção artificial, marcadores, análise de estirpes ou experimentos em condições controladas.

Nas 20 fichas preenchidas pelos pesquisadores consultados, 10 relataram ter como objetivo a análise interespecífica: 7 inferência filogenética e estudo de híbridos; 3 comparação entre espécies. Das outras 10 relacionadas a estudos intraespecíficos: 4 pretendiam estimar a herdabilidade; 5 eram descritivas (variação intrapopulacional ou geográfica); e 1 estudar o significado biológico. Isto é, no total, 35% dos estudos eram basicamente descritivos.

Conclusões

A primeira dificuldade no desenvolvimento de um trabalho como este é obter uma boa taxa de retorno dos formulários enviados. Desde o início delineamos o trabalho levando isto em

conta. Assim, utilizamos os Resumos do Congresso como uma fonte complementar. Além disto, contatando repetidamente os pesquisadores conseguimos, no final, obter um retorno de 33 dos 80 formulários enviados (41%). Esta taxa de retorno é bastante satisfatória para este tipo de consulta, já que freqüentemente consegue-se algo em torno de 10%.

Para suprir falhas e melhorar o grau de certeza de que as grandes lacunas encontradas eram reais e não devidas a dados insuficientes, consultamos o Biological Abstracts (1998 e 1999) e o Zoological Record (vols. 122 a 135). Fizemos um levantamento bibliográfico para os principais grupos de plantas e animais usando palavras-chaves apropriadas para a detecção da existência de pesquisas em biodiversidade genética no Brasil.

A maior dificuldade que encontramos foi a caracterização das informações do ponto de vista biogeográfico. As informações que conseguimos foram muito heterogêneas ou imprecisas. Ainda assim é possível examinar os dados qualitativamente, olhando os estados do Brasil de forma global. Mas, há que ser cauteloso quanto às conclusões.

Desta forma podemos apontar São Paulo, Minas, Rio Grande do Sul, Mato Grosso do Sul, Rio de Janeiro e Pará como os estados mais estudados. Semelhantemente, avaliamos, de maneira geral o litoral (Mata Atlântica, rios costeiros, bacia do Paraná), a região amazônica (Floresta e Bacia Amazônicas), e o cerrado – em São Paulo, Minas e Mato Grosso do Sul – como melhor estudados. Há trabalhos no Pantanal, mas são menos intensos. Finalmente, as regiões que nos parecem ser menos estudadas – ainda que sejam citadas – são a Caatinga e *principalmente* a região central, Goiás, Mato Grosso e Tocantins.

Examinando o conjunto geral dos dados, resumos e respostas dos pesquisadores, vemos que os táxons mais estudados entre os animais são: os insetos – principalmente os dípteros e himenópteros –, os peixes, os mamíferos – em especial, os roedores e os primatas – e as aves.

Já as grandes lacunas para os animais, são os equinodermas (ouriços e estrelas-do-mar); anelídeos (minhocas) e os cefalópodes e pelecípodes entre os gastrópodes. Mas, mesmo entre táxons bem estudados como os mamíferos nota-se a total ausência de felídeos (gatos em geral). Para todos estes grupos nenhum trabalho se encontra referenciado no Zoological Record sobre biodiversidade genética no Brasil. Finalmente, entre os insetos não encontramos em nossos dados citação aos hemípteros (percevejos), ainda que no Zoological Record haja muitas referências de trabalhos com reduviídeos (a família dos barbeiros).

Nas plantas há uma clara concentração em dicotiledôneas (ênfase em orquídeas e cactos). E, as maiores lacunas são as briófitas (musgos e hepáticas), as pteridófitas (samambaias) e as gimnospermas (pinheiros, entre outras) que não estão citadas em nenhum dos conjuntos de dados (resumos ou consulta a pesquisadores). Da mesma forma a pesquisa bibliográfica no Biological Abstracts é infrutífera na detecção de trabalhos sobre biodiversidade genética no Brasil nestes táxons.

O processo de coleta de informações para a preparação desta avaliação foi duplo: a utilização de resumos de Congresso da SBG e a consulta a pesquisadores. É difícil estabelecer *a priori* qual dos dois conjuntos de dados melhor representa a comunidade científica brasileira. Cada um deles tem seus vieses. Os pesquisadores consultados certamente estão entre o que há de melhor no País. Estes dados deverão superestimar a qualidade do que se faz, mas, eles estão provavelmente sinalizando nosso limite.

Quando comparamos os resultados dos dois conjuntos de dados, verificamos que é isto que de fato ocorre. Na Citogenética, apenas 6% dos Resumos da SBG mostrou empregar técnicas de hibridização *in situ* ou cromossomos politênicos, enquanto 36% eram cariótipo simples ou apenas contagem de cromossomos, isto é, as técnicas mais simples são mais usadas que as mais sofisticadas. Nas respostas dos pesquisadores este padrão está invertido: 52% e 12% para as duas técnicas, respectivamente. Semelhantemente, a maioria dos resumos tinham objetivos estritamente descritivos (52%) enquanto que este número se reduz nas fichas preenchidas pelos pesquisadores (30%). A proporção de trabalhos buscando fazer inferências filogenéticas – ao invés da simples comparação entre espécies – na análise da variação interespecífica, aumenta de 36% para 81% nos dois conjuntos de dados. De qualquer forma, a maior parte dos trabalhos já usa técnicas com algum grau de sofisticação – ao menos algum tipo de bandeamento.

Nos estudos de isozimas o mesmo padrão aparece: nos resumos da SBG o número médio de locos analisado é 12,1; sendo que 42% dos trabalhos analisaram menos de 10 locos. Nas respostas dadas pelos pesquisadores o número médio de locos analisado é 20 – aliás, este é exatamente o mesmo valor para o número médio de locos na revisão dos trabalhos publicados em todo o mundo feita por Avise (1994)! – e todos relataram usar pelo menos 10 locos.

Para a Genética Molecular, 50% dos resumos da SBG relataram o uso de seqüenciamento, número que sobe para 74% entre as respostas dadas pelos pesquisadores. Em relação aos objetivos, nos estudos sobre variação interespecífica, nos resumos 83% são para inferências filogenéticas, enquanto que nas respostas dos pesquisadores são todos. Isto mostra que provavelmente este é o campo da Genética que está utilizando as metodologias mais modernas a sua disposição. Além disto parece menor a diferença entre resumos e respostas de pesquisadores.

Os dados de estudos dos caracteres quantitativos nos Resumos da SBG são um conjunto até certo ponto heterogêneo. Uma proporção pequena (18%) esteve dedicada aos estudos interespecíficos; e 27% tinham objetivo apenas descritivo. Nos dados dos pesquisadores, de 10 respostas relacionadas à variação interespecífica, 7 buscavam fazer inferências filogenéticas. Deve-se notar, no entanto, que em ambos os casos, nenhuma das respostas acusava o objetivo de estudar QTLs, e poucas faziam correlações com variáveis genéticas. E estes são justamente os tópicos mais modernos no campo.

A tarefa do estudo da biodiversidade genética é gigantesca em qualquer país do mundo. Não há lugar onde se possa dizer que já se sabe o suficiente, nem sequer que já se sabe muito! Só

nos últimos 20 anos é que as ferramentas mais importantes da genética foram desenvolvidas, e só na última década é que seu preço está se tornando acessível. Portanto, o Brasil não é exceção. Há muitíssimo a ser feito, em todos os grupos, inclusive nos mais estudados. Aliás, estes têm o papel de modelo experimental para o trabalho a ser feito com os demais grupos de organismos.

Levando em conta todos os dados apresentados e as considerações feitas acima, acreditamos que podemos dizer que o Brasil se encontra numa posição razoável/boa. Para os grupos taxonômicos melhor estudados, para as áreas da genética que estão mais avançadas e para os grupos de pesquisa melhor preparados, o trabalho em andamento não deixa a desejar.

Entretanto, há também as grandes lacunas do conhecimento da biodiversidade genética no Brasil. Elas são de três tipos: quanto ao táxon, quanto à região geográfica e quanto à área da genética. Em síntese podemos dizer que os anelídeos, os equinodermas, os moluscos (cefalópodes e pelecípodes) e os felídeos são animais que precisam urgentemente ser estudados. Destes talvez a ausência mais estarrecedora seja a dos felídeos. A importância ecológica da onça – e dos outros gatos selvagens – bem como o fato desta espécie estar ameaçada de extinção e, também, a percepção de que suas populações estão quase certamente sofrendo forte ação da deriva genética fazem-na um material e uma oportunidade ímpar para o estudo da manutenção de diversidade genética nas populações naturais. Entre as plantas as briófitas, pteridófitas e gimnospermas são aquelas em que há falta *total* de informações. O Centro Oeste é a região do Brasil que mais necessita de estudos. Finalmente, uma análise genética moderna de características quantitativas no contexto do estudo da biodiversidade genética é uma lacuna importante a ser preenchida. Notadamente, na busca da caracterização de **QTLs**, que representam a síntese desejada entre fenótipo e genótipo.

EXECUTIVE SUMMARY

EVALUATION OF THE STATE OF KNOWLEDGE ON GENETIC BIODIVERSITY IN BRAZIL

Genetics can be didactically divided into 5 areas according to the methods used and the studied material: Cytogenetics; Molecular Genetics; Biochemical Genetics (Isozymes); Quantitative Genetics (Quantitative Traits); and Population Genetics (Polymorphisms).

To assess the present state of knowledge on genetic biodiversity in Brazil, we prepared a questionnaire with seven forms. The first collects data on the person giving the information, and the members of the staff and the institution. The last one obtains bibliographic references of the group's work. The other five forms address each of the Genetics areas above.

Each form has spaces for studied taxa, Family and Order identification, studied localities, habitats, relevant reference quotation, and a short description of the main results and conclusions. Furthermore, two fields were designed to acquire guided answers among a series of alternatives: objectives and methods. For the objectives, we provided a series of alternatives that progressively increased the complexity of the characterization of the genetic variability. For example: in interspecific studies, the following choices were provided: characterization of species, comparisons among species, and phylogenetic inferences. For the methods, likewise, we attempted to make a list which showed increasing complexity and/or degree of information.

To collect the data and assess the usefulness of the prepared forms, we initially used the published Summaries of the 42nd Congress of the Brazilian Society of Genetics (SBG) (1996), in which Genetic Biodiversity was the main topic. These summaries were used to fill out a total of 242 forms: 142 of Cytogenetics; 34 on Isozymes; 40 on Molecular Genetics; 22 on Quantitative traits; and 4 on Polymorphisms.

After testing the questionnaire using the Congress Summaries, it was sent to 80 scientists, heads of research groups in Brazil. Their names were chosen from the above summaries, as well as from the Research Group Directory and the Prossiga System, both from Conselho Nacional de Ciência e Tecnologia – CNPq.

Of the eighty scientists who were contacted, thirty-three filled out the questionnaires (often with multiple forms from each one). Approximately 60% of the answers came from the state of São Paulo, 10% from Rio Grande do Sul, and the remaining from Minas Gerais, Rio de Janeiro, and Paraná. In all, 106 forms were returned: 42 of Cytogenetics; 17 of Isozymes; 24 of Molecular Genetics; 20 of Quantitative Traits; and 3 of Polymorphisms. Since there were very few forms on polymorphisms, they will not be discussed here.

Cytogenetics

Cytogenetical methods can be divided into three or four categories according to the complexity and/or quantity of information. Analyzing the data from the SBG summaries we found among 141 forms: 36% using the simplest methods; 57% using banding, or similar, techniques (which are more informative), and 6% using techniques with higher definition (polytenic chromosomes and in situ hybridization). In the data received from scientists (43 forms), we found: 38% using in situ hybridization; 14% polytenic chromosomes; 39% using some kind of banding technique, and 12% with only simple karyotype or chromosome counting.

Regarding the objectives, 33 SBG summaries were related to the study of interspecific variation: 12 aimed at phylogenetic inferences and the remaining 21 only intended to make comparisons among species. Twenty-five SBG summaries were related to intraspecific studies: 18 were related to the description of intrapopulation variation and comparisons among populations; 3 investigated geographic variability; and 4 searched for clines. Of these summaries 52% can be said to have solely descriptive objectives, while 17% make an attempt at explanation.

Among the answers given by the scientists, 37 were related to interspecific studies. The majority of these (81%) were studies intending to make phylogenetic inferences and only a small portion (19%) was limited to simple comparison of species.

Isozymes

For a sound study of genetic variability, the number of loci should exceed 20 to be considered. Between 10 and 20 loci can be considered adequate and fewer than 10 loci is deemed insufficient. Similarly, more than 20 analyzed systems can be considered excellent, between 10 and 20, good, and between 5 and 10, fair.

The 34 SBG summaries of isozyme studies reported the use of 132 systems, with an average of 8.1 per paper. In all, 36% used fewer than 5 systems; 36% between 5 and 10; and 34% more than 10. The average number of loci per paper was 12.1 – where 42% of the papers analyzed fewer than 10; 32% between 10 and 20; and 26% more than 20.

Among 17 forms filled out by scientists, 180 systems were used, averaging 11.3 per work – 11% had fewer than 5 systems; 33% between 5 and 10; and 50% between 10 and 20. The average number of loci per work was 20. Nine forms reported from 10 to 20 loci and 7 forms more than 20 loci.

Among the 34 SBG summaries, 11 intended to study interspecific variation, of which only 4 intended to make phylogenetic inferences. From the remaining 22 summaries, 5 had the objective of comparing populations, and all others (72%) are only descriptive.

Among the 17 answers obtained from leading scientists, 10 were related to interspecific studies, half of them meant to make phylogenetic inferences and the other half meant to make comparisons between species. Among the remaining 7, 5 intended to study the structure of

populations, search for clines or correlations with environmental variables, and only 2 were solely descriptive. Overall, 40% can be considered to be essentially descriptive.

Molecular Genetics

The analysis of the objectives of 40 SBG summaries showed that among 23 related to interspecific variability, 83% aimed to obtain phylogenetic inferences. In all, 25% had descriptive goals. On the other hand, among the forms filled out by the scientists, 75% were related to interspecific study and all of them aimed at phylogenetic inferences, while only 17% had merely descriptive goals.

Among 38 SBG summaries, 53% used DNA sequencing – the most sophisticated and informative method of Molecular Genetics –, 26% used RFLP or microsatellites or other techniques, and 24% used RAPD (the least informative method). Among the 24 forms returned by the scientists, 74% used DNA sequencing, 25% RFLP, microsatellites or others, and only 4% RAPD.

Quantitative Traits

Among 22 SBG summaries examined, 50% used multivariate statistical analysis, and 27% performed experiments in controlled environmental conditions or analyzed inbred strains. On the other hand, among the 20 responses from scientists, 60% reported the use of multivariate tools and 25% used artificial selection, markers, analysis of strains or experiments under controlled environmental conditions.

Among the 20 forms filled out by the scientists, 10 were related to interspecific analysis: 7 to phylogenetic inferences and hybrid studies and 3 to comparing species. The remaining 10 reported intraspecific studies with the following objectives: 4 to estimate heritability; 5 descriptive (intrapopulation or geographic variation); and 1 to study the biological meaning of a trait. Thus, 35% were essentially descriptive.

Conclusions

The main difficulty in taking on this kind of study is to obtain a satisfactory return rate of the forms. Bearing this in mind, we used a double process to collect information to prepare this assessment: the SBG summaries and contacting representative leading scientists. With this, we obtained 33 of the 80 forms (41%). This rate is quite satisfactory, since this kind of study frequently has a 10% return rate.

To fulfill the faults and improve the level of certainty that the gaps we found were real and not due to insufficient data, we consulted the Biological Abstracts (1998 and 1999) and the Zoological Record (vols. 122 a 135). We performed a bibliographical study for the main plant and animal groups using appropriate key words to find any genetic biodiversity research in Brazil.

The greatest difficulty we found was the characterization of the information from a biogeographical point of view. The information we obtained was very heterogeneous or imprecise. Even so, it is possible to analyze the data in a qualitative manner, seeing the Brazilian states in a global way. Yet, one must be cautious in his conclusions.

This way, we can appoint the states of São Paulo, Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Mato Grosso do Sul, Rio de Janeiro and Pará as the most studied states. Similarly, we noticed, in general the coast (Atlantic Rain Forest, coastal rivers, Paraná River basin), the Amazon region (forest and river basin), and the cerrado – in São Paulo, Minas Gerais, and Mato Grosso do Sul – were the most studied. There are studies in the Pantanal, but less intense. Finally, the regions which appear to be least studied, even if mentioned, are the Caatinga and especially the central region: Goiás, Mato Grosso, and Tocantins.

Examining the data as a whole, summaries and researcher's answers, we see that the most studied taxa among animals are: insects – mainly Diptera and Hymenoptera –, fish, mammals – particularly rodents and primates –, and birds.

However, the great gaps for animals are the echinoderms (sea urchins and starfish); annelids (worms) and the cephalopods and Pelecypodae among the gastropods. But, even among well studied taxa, like mammals, the total absence of Felidae (cats in general) can be observed. There are no referred studies in the Zoological Record about genetic biodiversity of Brazil for any of the aforementioned groups. Finally, among insects, no citation to the Hemiptera (true bugs, including bedbugs, stink bugs) was found, although there are many references to studies with Reduviidae (kissing bugs) in the Zoological Record.

As for plants, there is a noticeable preference for dicots (primarily orchids and cacti), while the greatest gaps are for bryophytes (moss plants), pteridophytes (ferns), and gymnosperms (pine trees among others) which are not mentioned in any of the data sets (SBG summaries or scientist's answers). Likewise, the bibliographical research of the Biological Abstracts does not yield studies about the genetic biodiversity of Brazil for these taxa.

It is difficult to establish a priori which of the two data sets represents best the Brazilian scientific community. Each one has its own bias. The contacted scientists are certainly among the best in Brazil at present. Therefore, their responses probably are above the average quality of current work and presumably indicate our current upper limit.

This is indeed what we find when comparing the two sets of data. For instance, in Cytogenetics, among the SBG summaries the simplest techniques (karyotype or counting chromosomes) are more frequently used than the more sophisticated (in situ hybridization), while among the answers given by scientists, the pattern is quite the opposite. Likewise, the majority of the SBG summaries showed descriptive objectives (52%). However, this number declines to 30% in the forms filled out by the scientists. The percentage of the works trying to make phylogenetic inferences – rather than merely comparing species – increases from 36% to 81% in the two data

sets respectively. Anyhow, most of the works already uses techniques with some level of sophistication – at least some kind of banding. This overall pattern is present in the other areas.

In the studies with isozymes, in the SBG summaries, the average number of loci is 12.1, where 42% of the work used less than 10 loci. In the answers given by the scientists the average number is 20 – this is exactly the same number found in a worldwide review by Avise (1994)! – and all reported to use at least 10 loci.

In Molecular Genetics, 50% of the SBG summaries reported the use of DNA sequencing. This number increases to 74% among the responses of the scientists. With regard to the objectives, in the studies about interspecific variation, among the summaries, 83% indicate phylogenetic inference, while among the scientists reports this number is 100%. This indicates that this is most likely the field of Genetics which uses the most modern methods available. Furthermore, the difference between the summaries and the scientists' summaries seems smaller.

The Quantitative trait data are, to some extent, heterogeneous. A small portion, 18%, was dedicated to interspecific studies and 27% had a descriptive nature. In the data from the scientists, seven out of ten responses related to interspecific variation attempted phylogenetic inference. However, not a single case in both groups had the objective of studying QTLs (Quantitative Trait Loci), and few mentioned the goal of correlation to genetic variables. Ironically, these are the most modern topics in the field.

The task of the study of biodiversity is enormous in any country. Nowhere can we say has been sufficiently studied. It has been only in the past twenty years that the most important tools in genetics have been developed and only in the last decade have they become accessible. Thus, Brazil is no exception. There is much to be done in all groups, including in the most studied. As a matter of fact, they represent an experimental model for the studies to be done with the other groups of organisms.

Taking into account the data presented and the considerations above, we believe we can say Brazil is in a fair or good position. For the more studied taxonomic groups, for the more advanced areas of genetics, and for the better prepared research groups, the ongoing work leaves nothing to be desired.

On the other hand, there are great gaps in the knowledge of genetic biodiversity in Brazil. These can be divided in three groups: taxa, geographic areas, and field of genetics. In short, we can say that the annelids, the echinoderms, the mollusks (cephalopods and Pelecypodae), and the felines are animals which need urgently to be studied. Perhaps, the most astounding is in regard to the felines. The ecological significance of the onça (Brazilian jaguar), and other wild cats, as well as the fact of its being an endangered species and the fact that its populations are almost certainly suffering the effects of genetic drift, make it a rare opportunity for the study of genetic diversity maintenance in natural populations. Among plants, the bryophytes, pteridophytes, and

gymnosperms are those in which there is a total lack of information. The Mid-West is the part of Brazil which most needs research.

Finally, a modern genetic analysis of quantitative characteristics, in the context of genetic biodiversity study, is an important gap to be filled, particularly in the quest for the characterization of QTLs, which represent the desired synthesis between phenotype and genotype.

1. INTRODUÇÃO

Toda a diversidade dos seres vivos baseia-se em última instância na diversidade genética que está codificada nos genes, segmentos de moléculas de DNA. Em eucariotos (organismos com células verdadeiras) estas moléculas são encontradas no núcleo – associadas a proteínas em estruturas chamadas cromossomos – e em determinadas organelas. Nos animais as organelas com DNA são as mitocôndrias, e nas plantas são as mitocôndrias e os cloroplastos.

A Genética como disciplina estuda a transmissão, as alterações e a expressão dos genes, determinando as características fenotípicas. Ela, também, investiga a diversidade genética encontrada nas populações e nas espécies, e seu destino ao longo do tempo, isto é, sua evolução. É interessante notar que desde o início do século, pouco tempo depois da redescoberta das Leis de Mendel, a Genética já estava preocupada com a origem e manutenção da diversidade (Chetverikov, 1926; Fisher, 1930; Haldane, 1932; Wright, 1931, 1932).

A Genética pode ser dividida didaticamente em cinco sub-disciplinas ou áreas de acordo com as abordagens usadas e com o material investigado. A Citogenética focaliza os cromossomos e sua morfologia. A Genética Molecular (ou Biologia Molecular) analisa diretamente o DNA. A Genética Bioquímica estuda as variações protéicas, sobretudo de enzimas (isozimas). As Genéticas Quantitativa e de Populações pesquisam as características de distribuição contínua (como, por exemplo, a altura) e, as variações descontínuas (como, por exemplo, os diferentes padrões de coloração encontradas em espécies de mariposas, no melanismo industrial).

É importante notar que é necessária a existência de variabilidade para que seja possível utilizar as técnicas tradicionais da Genética – mendeliana e quantitativa – (Lewontin, 1974). Esta variabilidade pode ter origem natural (vinda de alguma população) ou ter sido induzida por algum mutagênico. Sem variantes genéticas não há como determinar o padrão de herança para qualquer caráter. Só através das técnicas e métodos citológicos (Citogenética), bioquímicos (isozimas) e moleculares que o estudo de caracteres invariantes é possível.

Ainda que o conhecimento da diversidade genética seja importante, ele não é necessariamente o objetivo primário do trabalho do geneticista. Frequentemente ele deseja estudar a adaptação de determinada população ao ambiente (por exemplo, através das correlações de variáveis genéticas e variáveis ambientais); a estruturação de populações de uma dada espécie; a explicação dos mecanismos evolutivos de manutenção da diversidade; a comparação de espécies para detectar diferenças e/ou para fazer inferências filogenéticas; *etc.* Em conseqüência, quando um determinado táxon é estudado o conhecimento que se obtém sobre ele não é cumulativo, isto é, não se estuda primeiro a Citogenética com descrição de cariótipos, bandeamento, depois isozimas, até seqüenciamento de fragmentos de DNA. Em geral são utilizadas as técnicas mais poderosas à

disposição dos pesquisadores para responder às questões de sua pesquisa, os limites normalmente são o custo e o domínio (“know-how”) das metodologias pelos pesquisadores. Embora haja uma certa tendência dos geneticistas a permanecer trabalhando com um determinado táxon durante muito tempo e ir usando técnicas cada vez mais refinadas e/ou modernas.

Portanto, uma avaliação do estado atual do conhecimento da biodiversidade genética do Brasil não pode ser um inventário de todos os dados publicados envolvendo cada uma das muitas técnicas e métodos sobre cada grupo de animais e plantas. O próprio trabalho da Genética não se desenvolve desta maneira. A análise da metodologia e dos objetivos que estão sendo usados pelos diversos grupos de pesquisa fornece um melhor diagnóstico da situação de seu desenvolvimento e do estado atual do conhecimento de uma determinada área. Além do mais, ao que tudo indica, a informação que os pesquisadores estão interessados em dar e em recuperar é o que se faz *atualmente* nos vários grupos, e não o que se fez. Quando iniciamos a preparação dos formulários, pareceu-nos que os informantes dificilmente viriam a dar o histórico de seu trabalho mas que mencionariam principalmente os resultados mais recentes. E, de fato, foi o que ocorreu.

2. METODOLOGIA

Considerando que há milhares de genes por espécie e milhões de espécies de seres vivos e o exposto acima estabelecemos alguns critérios para desenvolver o presente trabalho. Em primeiro lugar só incluímos dados de animais e plantas silvestres (não-domésticas) brasileiras. E, mais importante, este trabalho não é – e nem se propõe a ser – uma revisão bibliográfica exaustiva com dados sobre todas aquelas espécies. O objetivo é tentar diagnosticar o estado atual do conhecimento de diversidade genética no Brasil, fazendo uma amostra das pesquisas em andamento no país, verificando os principais táxons que estão sendo estudados, quais os objetivos destes estudos e os métodos em uso – sobretudo tentando categorizá-los em função do tipo de informação que geram e/ou grau de complexidade. Com isto podemos inferir o limite de trabalho de cada grupo e ter subsídios – sobre recursos de análise e de pessoal disponível – que nos auxiliem no planejamento de uma política científica.

Em função disto, para realizar esta avaliação, foi elaborado um formulário estruturado com 7 fichas. A primeira ficha coleta dados sobre o pesquisador, membros da equipe e instituição (endereços, titulação, vínculo empregatício, etc.). A última é preenchida com as referências bibliográficas do trabalho do grupo (autores, ano, revista, etc.). As demais correspondem a cada uma das 5 sub-disciplinas da Genética.

Nas 5 fichas referentes às áreas da Genética há espaço para colocar os táxons estudados; identificação de família e ordem; localidades estudadas; habitats; citação das referências relevantes (que estão completas na última ficha), e uma breve descrição dos principais resultados e conclusões (uma a três frases). Além disto há dois campos para obter informações mais dirigidas,

isto é, onde o informante deve selecionar as respostas entre uma série apresentada (naturalmente, há sempre espaço para *outras* respostas). Eles são objetivos e métodos e são específicos para cada área. Eles vão servir de ferramentas para a classificação dos trabalhos. Desta forma pode-se tentar detectar onde estão as lacunas da situação brasileira no que tange a três aspectos fundamentais: organismos, áreas e técnicas e métodos usados em cada uma das áreas da Genética.

3. AMOSTRAGEM

Resumos do 42º Congresso da Sociedade Brasileira de Genética

Para a coleta dos dados utilizamos inicialmente os Resumos publicados do 42º Congresso da Sociedade Brasileira de Genética realizado em Caxambu em 1996 cujo tema foi Biodiversidade Genética. Depois de examinar cada um, os resumos relevantes relacionados à biodiversidade genética de espécies nativas de animais e plantas foram selecionados. Deles foram retiradas as informações para preencher 242 fichas no total, como discriminadas na Tabela 1.

Tabela 1. Número de Fichas Preenchidas (e porcentagem do total) a partir dos Resumos do 42º Congresso da Sociedade Brasileira de Genética, Caxambu, 1996 para cada uma das 5 áreas da Genética. Cada ficha preenchida corresponde a um resumo diferente.

	Área	Nº.	%
Ficha 2	Citogenética	142	58,7
Ficha 3	Isozimas	34	14,0
Ficha 4	Molecular	40	16,5
Ficha 5	C. Quantitativos	22	9,1
Ficha 6	Polimorfismos	4	1,7
TOTAL		242	

O objetivo deste conjunto de dados era testar o formulário e também obter uma amostra que não tivesse o viés do sistema de consulta-resposta. Isto é, todos os trabalhos relevantes foram incluídos independentemente do tamanho e importância do grupo de pesquisa, bem como da disponibilidade em responder a uma consulta.

Consulta a Pesquisadores

Depois de testar o formulário usando os Resumos do Congresso, ele foi enviado a 80 pesquisadores, líderes de grupos de pesquisa no País, com uma carta de encaminhamento explicando seu preenchimento bem como os objetivos do projeto e o uso a ser feito das informações coletadas. A lista de pesquisadores foi elaborada a partir do trabalho prévio com os Resumos verificando os pesquisadores com contribuição na área. Além disto foram pesquisados os

Bancos de Dados: “Diretório dos Grupos de Pesquisa no Brasil – versão 2.0” e “Diretório Prossiga”, ambos do CNPq.

Os pesquisadores que não responderam de imediato devolvendo os formulários foram contatados uma segunda vez por correspondência eletrônica reiterando o pedido. No total dos 80 pesquisadores consultados, 33 responderam preenchendo os formulários. Naturalmente, em função de seu tipo de pesquisa, alguns pesquisadores responderam preenchendo apenas uma ficha enquanto outros preencheram várias. Os números totais de fichas preenchidos em função das áreas da genética estão mostrados na Tabela 2.

Tabela 2. Número (e porcentagem do total) de fichas, para cada uma das 5 áreas da Genética, preenchidas pelos 33 pesquisadores que responderam entre os 80 consultados.

	Área	Nº.	%
Ficha 2	Citogenética	42	40
Ficha 3	Isozimas	17	16
Ficha 4	Molecular	24	23
Ficha 5	C. Quantitativos	20	19
Ficha 6	Polimorfismos	3	3
TOTAL		106	

Na Tabela 3 encontram-se por estado do País os números e porcentagens de pesquisadores a quem se enviou os formulários, os números e porcentagens dos que responderam e as origens dos Resumos do 42º Congresso da Sociedade de Genética. Existem disparidades entre os três conjuntos. Mas de forma geral o que se vê é que São Paulo é o estado mais representado tanto nos formulários recebidos quanto nos resumos (61% e 46%, respectivamente), os demais estados do Sudeste têm 12 e 15% (formulários recebidos e resumos, respectivamente), os estados do Sul taxas apresentam valores de 15 e 17% e os estados das regiões Norte, Nordeste e Centro Oeste agrupados têm 12% dos formulários e 22% dos resumos.

As discrepâncias observadas, na verdade, são bem menores entre os pesquisadores a quem se enviou os formulários e os Resumos. Assim as proporções nestes dois conjuntos de dados para São Paulo são, respectivamente, 44 e 46%. Para os estados do Norte, Nordeste e Centro Oeste são 21 e 22%, respectivamente. É interessante notar que a participação de São Paulo aumenta quase 20% nos formulários devolvidos (passa de 44% para 61%), o que significa uma taxa de retorno de 57%. Isto se dá, em parte, às custas de uma baixa taxa de retorno de formulários dos pesquisadores das regiões Norte, Nordeste e Centro Oeste. Passam de 22% do total a 12%, devido a uma taxa de retorno de apenas 24% (4 pesquisadores entre 17 consultados responderam).

A alta taxa de retorno obtida para os pesquisadores paulistas encontrou paralelo na velocidade de suas respostas, eles também foram aqueles que primeiro responderam. Apesar de

não termos quantificado este último aspecto, sua presteza na devolução dos formulários foi claramente sentida.

Tabela 3. Quadro comparativo da participação de cada Estado (#: número e %: porcentagem do total) entre os pesquisadores a quem os formulários foram enviados; entre os pesquisadores que devolveram os formulários; e entre autores dos Resumos do 42º Congresso da Sociedade Brasileira de Genética.

Estados	Enviados		Devolvidos		Resumos	
	#	%	#	%	#	%
São Paulo	35	43,8	20	60,6	143	45,7
Rio Grande do Sul	12	15,0	4	12,1	29	9,3
Paraná	7	8,8	1	3,0	23	7,3
Amazonas	6	7,5	2	6,1	13	4,2
Rio de Janeiro	4	5,0	2	6,1	17	5,4
Minas Gerais	4	5,0	2	6,1	28	8,9
Pernambuco	4	5,0	0	0	18	5,6
Distrito Federal	3	3,8	2	6,1	7	2,2
Goiás	2	2,5	0	0	6	1,9
Pará	2	2,5	0	0	19	6,1
Santa Catarina	1	1,3	0	0	2	0,6
Tocantins					1	0,3
Paraíba					5	1,6
Maranhão					1	0,3
Bahia					1	0,3
TOTAL	80		33		313	

4. CITOGENÉTICA

Ainda que na maioria das espécies o número cromossômico seja constante, há várias espécies em que isto não ocorre. Normalmente, a variação numérica quando encontrada é fruto da fusão (ou fissão) de cromossomos por seus centrômeros – chamada de fusão Robertsoniana – que gera heterozigotos equilibrados (com todo o conjunto cromossômico) e viáveis. Isto gera um polimorfismo balanceado com a presença na mesma população de indivíduos com um ou dois cromossomos a mais que aqueles com menor número (representando respectivamente os heterozigotos para a translocação, e o homozigoto para os cromossomos separados); entretanto, isto não é obrigatório. Evidentemente entre espécies há variações de número além das devidas por fusões e fissões Robertsonianas. Entre elas pode-se destacar as que são múltiplas do complemento básico de uma espécie (autopoliploidia) ou múltiplas da soma dos complementos de duas espécies (alopoliploidia). Deve-se notar que a poliploidia é importante mecanismo de especiação entre angiospermas.

Além das alterações de número há as alterações de estrutura. Pode-se destacar as deficiências ou deleções (perdas de pedaço), as duplicações, as translocações (troca de pedaços entre cromossomos não homólogos) e as inversões (segmentos do cromossomo que estão invertidos). Numa série de organismos se tem encontrado variação nas populações naturais para inversões, isto é, a presença de dois ou mais arranjos cromossômicos em frequências ponderáveis. Naturalmente, para que se possa detectar a presença de inversões é necessário que o cromossomo apresente marcadores ao longo de seu comprimento. Isto em geral ocorre quando se dispõe de material e/ou técnica favoráveis (cromossomos politênicos ou bandeamento).

Análise dos Objetivos

Para a citogenética foram pré-definidas as seguintes opções de objetivos:

1. Caracterização do padrão da(s) espécie(s);
2. Descrição da variação intrapopulacional;
3. Comparações entre populações;
4. Caracterização da variação geográfica;
5. Ocorrências de clines e/ou correlações com o ambiente;
6. Correlação de variáveis genéticas com variáveis morfológicas ou fisiológicas;
7. Comparações interespecíficas;
8. Inferências filogenéticas;
9. Outros (especifique).

Os itens 1 a 6 correspondem a um aumento progressivo de complexidade na caracterização da variabilidade genética intraespecífica partindo da pura descrição pela variação do padrão geral da espécie até a tentativa de interpretação ou busca de significado adaptativo. Os itens 1, 7 e 8 são também um gradiente de complexidade para o estudo da variação interespecífica, partindo da caracterização de cada espécie, às comparações entre espécies – em geral de natureza descritiva apenas – e alcançando as inferências filogenéticas.

Métodos

Na citogenética foram sugeridos alguns métodos para serem selecionados:

1. Apenas contagem de cromossomos;
2. Cariótipo simples;
3. Banda C;
4. Banda G;
5. Fluorocromos A/T específicos (DA/DAPI);
6. Fluorocromos G/C específicos (CMA, MM);
7. Região organizadora do nucléolo (NOR);
8. Hibridização *in situ*;

9. Cromossomos Politênicos;

10. Outros (especifique):

Estes métodos podem ser divididos em três categorias de complexidade e/ou quantidade de informação. Em primeiro lugar os itens 1 e 2 representam a obtenção de informação mais simples. A confecção do cariótipo pode ser muito informativa sobretudo para estudos com objetivos de comparações interespecíficas. Normalmente, examinam-se o número, o tamanho e a forma dos cromossomos – posição do centrômero e/ou presença e posição de constrições – buscando encontrar diferenças e semelhanças. A técnica é relativamente simples, parte-se de material apropriado rico em divisões celulares, mitóticas ou meióticas, por exemplo, gânglio cerebral de dípteros; testículos; medula óssea em roedores; ponta da raiz ou anteras em plantas. Este material pode ser tratado com colchicina para enriquecimento do número de células em divisão, e é apropriadamente corado, esmagado e analisado ao microscópio.

Quando os cromossomos são tratados com ácido e a seguir corados com Giemsa há o aparecimento de um padrão de bandas claras e escuras ao longo dos cromossomos que é consistente intraespecificamente – as bandas formadas passaram a ser chamadas Bandas G (veja Fig 1). Este padrão é o resultado da ligação preferencial do corante a algumas regiões do cromossomo. Acreditava-se, neste caso específico, que as diferenças entre bandas claras e escuras eram devidas à proporção relativa de bases (ricas em G/C para as regiões claras, ou A/T para escuras). No entanto, atualmente pensa-se que provavelmente é devido ao padrão de condensação do material cromossômico. Além do Giemsa, outros corantes têm o mesmo comportamento, ligando-se preferencialmente a regiões diversas dos cromossomos. Há a quinacrina (bandas Q) e há também fluorocromos que são específicos para regiões ricas em A/T (DA/DAPI) e outros para regiões ricas em G/C (CMA, MM). Há ainda coloração utilizando prata que permite evidenciar a região organizadora do nucléolo (NOR). Todas estas técnicas de bandeamento permitem subdividir o cromossomo em várias regiões acrescentando portanto um grau maior de informação ao cariótipo.

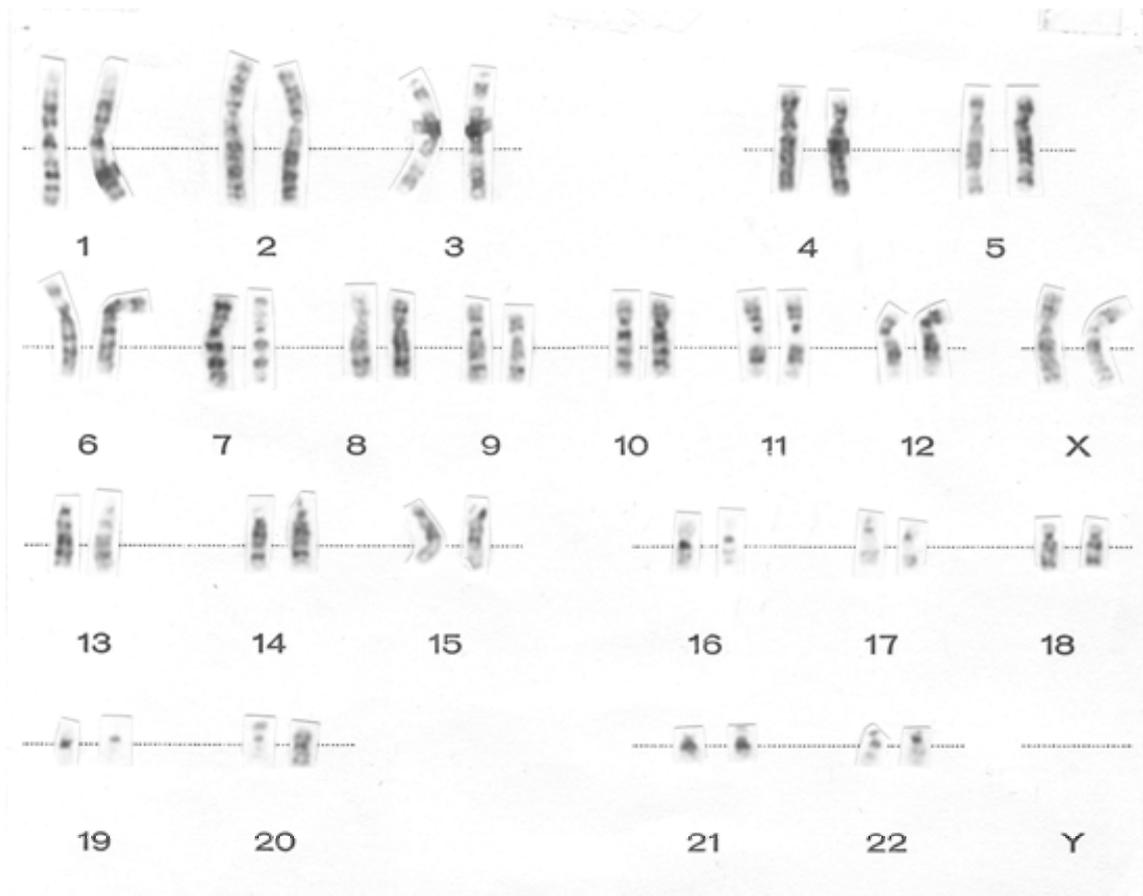


Figura 1. Cariótipo humano com bandas G. (fonte: Denise Pontes Cavalcanti)

Em dípteros, por exemplo em *Drosophila*, em *Sciara*, ou em mosquitos, ocorrem cromossomos politênicos. Eles estão presentes em células em intérfase, e são o fruto de muitas duplicações do DNA sem as divisões celulares correspondentes, isto é, sem a separação das cromátides. À medida que este processo avança, o número de réplicas de DNA aumenta e os cromossomos vão se tornando cada vez mais avolumados e com maior diâmetro. Quando eles são corados e observados ao microscópio verifica-se que eles apresentam um padrão de bandas típico (veja Fig. 2). Apesar de ser uma técnica muito simples e barata, o número de bandas dos cromossomos politênicos é muito maior que o obtido com as técnicas de bandeamento mencionadas acima.

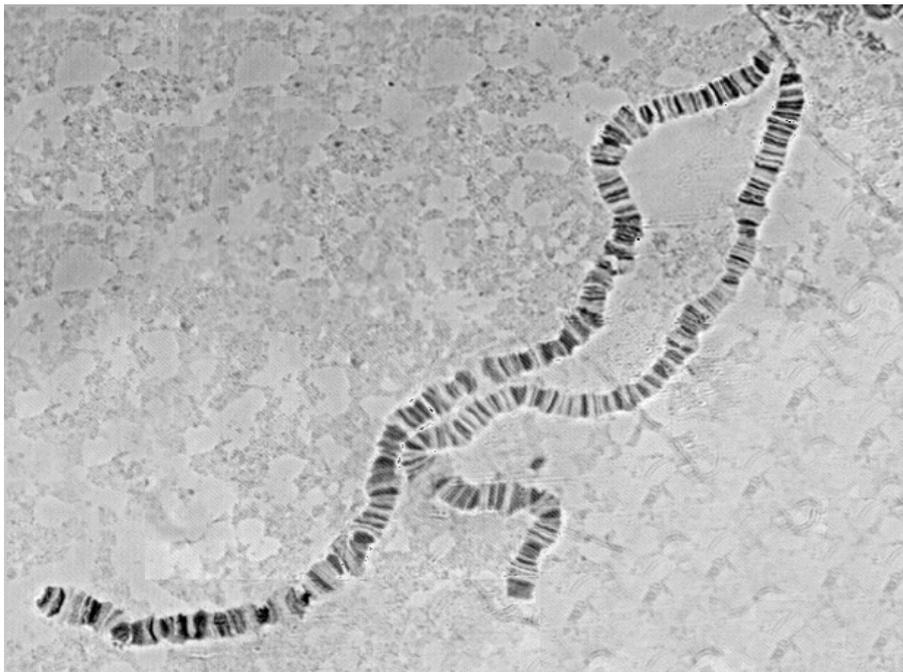


Figura 2. Cromossomos Politênicos de *Drosophila mediopunctata* (cromossomos II e IV)(fonte: Galina Ananina & Louis B. Klaczko).

O método de análise mais sofisticado da Citogenética – constituindo a terceira categoria – é a hibridização *in situ*. Aqui toma-se uma sonda de um segmento de DNA conhecido e apropriadamente marcado (por fluorescência ou com isótopo radioativo). A sonda é colocada em contato com uma preparação na qual os cromossomos estão levemente desnaturados. O tratamento adequado do material garante a ligação específica entre a sonda e o gene correspondente *in situ*. A revelação permite a identificação do local onde o gene se encontra no cromossomo. Quando se usa a fluorescência, a técnica é chamada de “fluorescent in situ hybridization” (FISH).

Dados do Congresso da Sociedade Brasileira de Genética

Analisando o banco de dados criado com os Resumos do Congresso da SBG, encontramos: 7 fichas usando hibridização *in situ*; 2 analisando cromossomos politênicos; 16 com bandeamento com fluorocromos e 3 com bandeamento por enzimas de restrição; 58 com algum outro tipo de bandeamento (G, NOR, *etc.*); 40 com cariótipo simples; e 11 com apenas contagem dos cromossomos; 4 com alguma outra metodologia e 28 não-informativas. Desta forma podemos dizer que entre as respostas válidas 36% correspondem a trabalhos em que se está obtendo a informação mais simples; 57% com técnicas envolvendo bandeamento (ou similares) que fornecem um grau maior de informação, e 6% técnicas que têm grau máximo de definição.

Quanto aos objetivos, encontramos 33 resumos ligados ao estudo da variação interespecífica, sendo que 12 buscando fazer inferências filogenéticas e os 21 restantes apenas

comparações entre espécies. O estudo da variação intraespecífica ficou caracterizado em 25 resumos, sendo que 18 são descrição da variação intrapopulacional e comparações entre populações, 3 caracterização da variação geográfica e 4 buscando clines. No total 73 resumos tinham por objetivo apenas descrever o padrão de uma dada espécie; houve ainda 8 resumos com outros objetivos (associação com elementos de transposição, entre outros). Portanto, 52% dos trabalhos têm objetivo estritamente descritivo e 17% têm objetivos interpretativos. As famílias e ordens estudadas de plantas e de animais estão respectivamente nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 4. Famílias e Ordens de Plantas nos Resumos na Área de Citogenética.

DIVISÃO	Classe	ORDEM	FAMÍLIA
ANGIOSPERMAE	<i>Dicotyledonae</i>	<i>Urticales</i>	<i>Moraceae</i>
			<i>Cannabaceae</i>
		<i>Fabales</i>	<i>Fabaceae</i>
		<i>Geraniales</i>	<i>Euphorbiaceae</i>
		<i>Rutales</i>	<i>Malpighiaceae</i>
		<i>Sapindales</i>	<i>Sapindaceae</i>
		<i>Violales</i>	<i>Passifloraceae</i>
		<i>Cucurbitales</i>	<i>Cucurbitaceae</i>
		<i>Myrtales</i>	<i>Rhizophoraceae</i>
		<i>Gentianales</i>	<i>Apocynaceae</i>
ANGIOSPERMAE	<i>Monocotyledonae</i>	<i>Scrophulariales</i>	<i>Convolvulaceae</i>
			<i>Solanaceae</i>
		<i>Liliales</i>	<i>Iridaceae</i>
		<i>Arales</i>	<i>Araceae</i>

Dados de Respostas dos Pesquisadores

Analisando o banco de dados criado com as fichas preenchidas pelos pesquisadores que foram devolvidas encontramos: 16 (38%) usando hibridização *in situ*; 6 (14%) analisando cromossomos politênicos; 4 (10%) com bandeamento com fluorocromos e 12 (29%) com algum outro tipo de bandeamento (G, NOR, C, R); 5 (12%) com cariótipo simples ou com apenas contagem dos cromossomos.

Quanto aos objetivos 37 fichas estavam ligadas ao estudo da variação interespecífica, sendo que 30 (81%) buscando fazer inferências filogenéticas e as 7 (19%) restantes apenas comparações entre espécies. O estudo da variação intraespecífica ficou caracterizado em 5 fichas, sendo que 2 descrevem a variação intrapopulacional e fazem comparações entre populações, e as 3 outras buscando clines ou interpretações para o significado biológico da variação encontrada.

As famílias e ordens de animais que os pesquisadores relataram estudar estão na Tabela 6.

Tabela 5. Famílias e Ordens de Animais nos Resumos na Área de Citogenética.

FILO	Classe	Ordem	Familia
PLATYHELMINTHES	<i>Turbellaria</i>	<i>Tricladida</i>	<i>Rhynchodemidae</i>
ARTHROPODA	<i>Insecta</i>	<i>Orthoptera</i>	<i>Gryllidae</i>
			<i>Romaleidae</i>
			<i>Phalangopsidae</i>
		<i>Neuroptera</i>	<i>Chrysopidae</i>
			<i>Myrmeleontidae</i>
		<i>Lepidoptera</i>	<i>Gelechiidae</i>
			<i>Heliconiidae</i>
			<i>Nymphalidae</i>
			<i>Pyralidae</i>
		<i>Diptera</i>	<i>Culicidae</i>
			<i>Drosophilidae</i>
			<i>Sarcophagidae</i>
			<i>Sciaridae</i>
			<i>Tephritidae</i>
		<i>Coleoptera</i>	<i>Bruchidae</i>
			<i>Curculionidae</i>
			<i>Loxoscelidae</i>
		<i>Hymenoptera</i>	<i>Anthophoridae</i>
<i>Apidae</i>			
<i>Eurytomidae</i>			
<i>Formicidae</i>			
		<i>Vespidae</i>	
ARTHROPODA	<i>Chelicerata</i>	<i>Araneae</i>	<i>Sicariidae</i>
CHORDATA	<i>Osteichthyes</i>	<i>Anguilliformes</i>	<i>Muraenidae</i>
		<i>Characiformes</i>	<i>Characidae</i>
			<i>Characidiinae</i>
			<i>Curimatidae</i>
			<i>Parontidae</i>
			<i>Prochilodontidae</i>
		<i>Gymnotiformes</i>	<i>Gymnotidae</i>
<i>Siluriformes</i>	<i>Pimelodidae</i>		
	<i>Trichomycteridae</i>		
	<i>Lophiiformes</i>	<i>Antennaridae</i>	
CHORDATA	<i>Amphibia</i>	<i>Anura</i>	<i>Brachycephalidae</i>
			<i>Bufo</i>
			<i>Hylidae</i>
			<i>Leptodactylidae</i>
CHORDATA	<i>Reptilia</i>	<i>Sauria</i>	<i>Gekkonidae</i>
			<i>Gymnophthalmidae</i>
	<i>Squamata</i>	<i>Polychrotidae</i>	
CHORDATA	<i>Aves</i>	<i>Passeriformes</i>	<i>Emberizidae</i>
		<i>Psittaciformes</i>	<i>Psittacidae</i>
		<i>Tinamiformes</i>	<i>Tinamidae</i>

Tabela 5.(continuação)

FILO	Classe	Ordem	Família
CHORDATA	Mammalia	Marsupialia	<i>Didelphidae</i>
			<i>Marmosidae</i>
		Chiroptera	<i>Mossolidae</i>
			<i>Phyllostomidae</i>
			<i>Mormoopidae</i>
		Primates	<i>Atelidae</i>
		Rodentia	<i>Caviidae</i>
			<i>Cricetidae</i>
			<i>Dasyproctidae</i>
			<i>Erethizontidae</i>
			<i>Octodontidae</i>
			<i>Sigmodontinae</i>
			<i>Canidae</i>
		Carnivora	<i>Canidae</i>
Sirenia	<i>Trichechidae</i>		
Artiodactyla	<i>Tayassuidae</i>		

5. ISOZIMAS

A partir da década de 60 a eletroforese de proteínas passou a ser utilizada na Genética com o objetivo de detectar variabilidade genética em populações (Harris, 1966; Hubby & Lewontin, 1966; Lewontin & Hubby, 1966). O princípio básico da eletroforese é colocar uma mistura de proteínas que se quer analisar num suporte apropriado – papel, acetato de celulose, gel de amido, gel de acrilamida – e submetê-la a um campo elétrico. Em função de sua carga elétrica, as proteínas vão migrar em direção a um dos eletrodos (veja Fig. 3). Sua migração será tanto mais rápida quanto maior for sua carga elétrica, menor seu tamanho e mais compacta sua conformação. Assim, na medida que as proteínas apresentam diferenças nestas características elas migram diferencialmente e, ao final de algum tempo, é possível separá-las.

Depois da migração o gel é corado ou revelado. Se a proteína estiver em grande quantidade, como por exemplo a albumina no soro de mamíferos, um corante geral para proteínas permite identificar sua localização no gel. No entanto, no caso de enzimas que estão em baixa concentração no material usado a estratégia é diferente. Coloca-se o gel numa solução que contém o(s) substrato(s) da reação que a enzima catalisa. Colocam-se, também, corantes que se ligam a um dos produtos da reação e que precipitam. Assim a presença da enzima pode ser detectada pelo aparecimento de uma mancha no gel que é o resultado da precipitação do corante no local onde ocorreu a reação (veja revisão em Alfenas, 1998). Com esta técnica foi possível verificar que há

grande variabilidade genética, isto é, para a mesma enzima ocorrem formas com diferentes mobilidades eletroforéticas que são chamadas isozimas (veja Fig. 4).

Análise dos Objetivos

Para as isozimas foram dadas as mesmas opções dadas no formulário de Citogenética, acrescidas apenas de “Caracterização da estrutura populacional”.

Tabela 6. Famílias e ordens de animais mencionadas pelos pesquisadores nos estudos em Citogenética.

FILO	Classe	ORDEM	FAMÍLIA
ARTHROPODA	<i>Insecta</i>	<i>Diptera</i>	<i>Drosophilidae</i>
			<i>Tephritidae</i>
		<i>Hymenoptera</i>	<i>Apidae</i>
			<i>Sphecidae</i>
CHORDATA	<i>Osteichthyes</i>	<i>Characiformes</i>	<i>Anostomidae</i>
			<i>Characidae</i>
			<i>Curimatidae</i>
			<i>Gasteropelecidae</i>
			<i>Prochilodontidae</i>
			<i>Serrasalminidae</i>
		<i>Perciformes</i>	<i>Cichlidae</i>
			<i>Sciaenidae</i>
		<i>Gymnotiformes</i>	<i>Gymnotidae</i>
			<i>Sternopygidae</i>
			<i>Callichthyidae</i>
		<i>Siluriformes</i>	<i>Loricariidae</i>
<i>Pimelodidae</i>			
<i>Gekkonidae</i>			
CHORDATA	<i>Reptilia</i>	<i>Squamata</i>	<i>Gymnophthalmidae</i>
			<i>Tropiduridae</i>
			<i>Psittacidae</i>
CHORDATA	<i>Aves</i>	<i>Passeriformes</i>	<i>Emberizidae</i>
		<i>Tinamiformes</i>	<i>Tinamidae</i>
		<i>Psittaciformes</i>	<i>Psittacidae</i>
		(um pesquisador consultado relatou estudar todas as ordens de Aves).	
CHORDATA	<i>Mammalia</i>	<i>Rodentia</i>	<i>Cricetidae</i>
			<i>Echimyidae</i>
			<i>Muridae</i>
		<i>Chiroptera</i>	<i>Molossidae</i>
			<i>Phyllostomidae</i>
		<i>Artiodactyla</i>	<i>Tayassuidae</i>

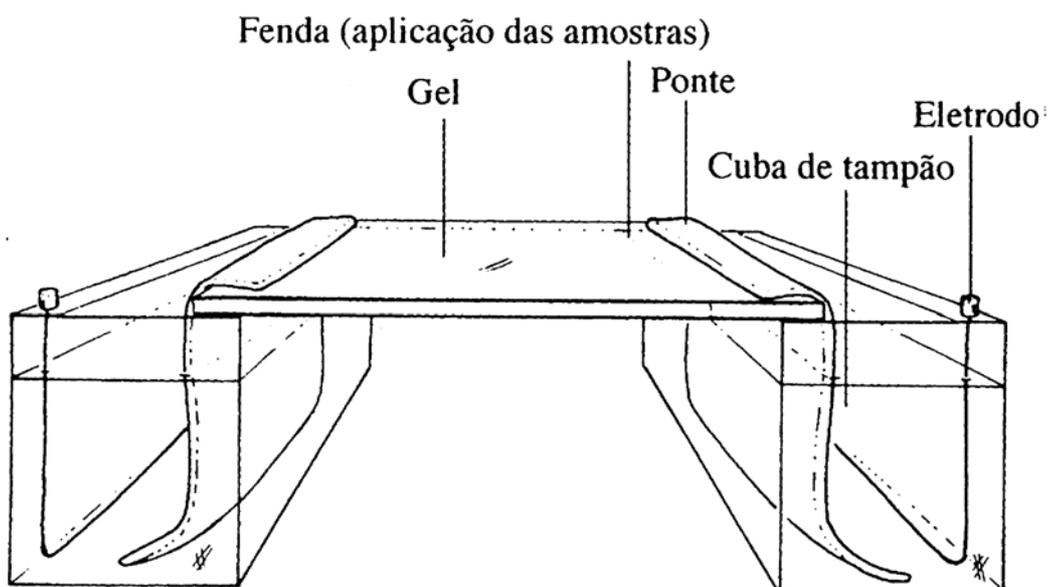


Figura 3. Esquema descrevendo o procedimento de eletroforese (veja texto; fonte: Solferini & Selivon, 2001).



Figura 4. Isozimas: Isocitrato desidrogenase de *Cochliomyia hominivorax*.
(fonte: M. I. Infante-Malachias & V. N. Solferini)

Métodos

Atualmente, há um número muito grande de técnicas à disposição para ser usado. No formulário, além do espaço para acrescentar outras, nós demos opção para as seguintes proteínas: proteínas totais; adenosina deaminase, aspartato amino transferase (glutamato oxalo acetato

transaminase); fosfatase ácida; aconitase; álcool desidrogenase; aldolase; aldeído oxidase; amilase; catalase; esterase; fumarase; galactose desidrogenase; glicero-3-fosfato desidrogenase; glicose 6 fosfato desidrogenase; hidroxibutírico desidrogenase; hexoquinase; isocitrato desidrogenase; leucino amino peptitase; lactato desidrogenase; malato desidrogenase; manose 6 fosfato isomerase; enzima málica; octanol desidrogenase; peptidase; peroxidase; 6 fosfogluconato desidrogenase; fosfo glico isomerase; fosfoglucomutase; superóxido dismutase; transferrinas; xantina desidrogenase. Neste caso uma enzima não é necessariamente mais informativa que a outra. Há diferenças de custo e também algumas enzimas (por exemplo, esterases) tendem a ser mais variáveis, apresentando muitas bandas condicionadas por vários locos nos mais diversos organismos.

Pediam-se, também, os seguintes números: total de sistemas analisados; total de locos; total de indivíduos; mínimo e máximo de indivíduos por população. Avise (1994) fazendo uma revisão de dados de heterozigosidade (variabilidade genética) publicados sobre 1803 espécies de plantas e animais encontrou uma média de 20 locos por trabalho. Portanto, pode-se considerar que, para trabalhos que pretendam medir variabilidade genética, um bom número de locos estudado seja superior a 20. Entre 10 e 20 pode ser visto como razoável e menor que 10, pequeno. Da mesma forma, pode-se admitir que um número de sistemas acima de 20 é excelente; entre 10 e 20, bom; entre 5 e 10, razoável; e até 5, pequeno.

Dados do Congresso da Sociedade Brasileira de Genética

Num total de 34 formulários com respostas válidas foi relatado o uso de 132 sistemas, dos quais os mais usados foram estão na Tabela 7.

Dos 34 resumos, 11 tinham por objetivo estudar a variação interespecífica, dos quais apenas 4 pretendiam fazer inferências filogenéticas. Dos 22 resumos restantes, 5 tinham por objetivo a comparação de populações e todos os demais (representando 72%) são apenas descritivos.

O número de sistemas usado por trabalho foi em média 8,1, sendo que 9 (36%) com menos de 5 sistemas; 9 (36%) entre 5 e 10; 6 (24%) usando entre 10 e 20; e apenas 1 (4%) mais de 20. O número médio de locos estudados por trabalho foi de 12,1 sendo 8 (42%) trabalhos analisando menos de 10; 6 (32%) entre 10 e 20 locos; e 5 (26%) mais de 20 locos. Em média foram analisados 340 indivíduos, sendo que este número variou de 13 a 2120. O número médio de locos analisados por trabalho, isto é, o produto “número total de indivíduos” x “número de locos” foi 3551 e variou de 78 a 19646.

Tabela 7. Número de vezes em que os vários sistemas de isozimas foram relatados nos Resumos do Congresso e nas respostas dadas pelos pesquisadores.

	RESUMOS	PESQUISADORES
Proteínas totais	3	0
Aspartato amino transferase (glutamato oxalo acetato transaminase)	4	9
Fosfatase ácida	5	9
Álcool desidrogenase	4	7
Esterase	16	14
Galactose desidrogenase	3	4
Glicero-3-fosfato desidrogenase	4	3
Glicose 6 fosfato desidrogenase	5	5
Hexoquinase	0	5
Isocitrato desidrogenase	12	13
Leucino aminopeptidase	6	10
Lactato desidrogenase	4	2
Malato desidrogenase	13	12
Enzima málica	9	9
Peptidase	0	7
Peroxidase	6	2
Fosfogluconato desidrogenase	2	6
Fosfo glico isomerase	11	9
Fosfoglucomutase	14	13
Superóxido dismutase	4	2

As famílias e ordens de plantas e animais relatadas nos resumos estão nas tabelas 8 e 9, respectivamente.

Tabela 8. Famílias e Ordens de Plantas nos Resumos para Isozimas.

DIVISÃO	ORDEM	FAMÍLIA
<i>Classe</i>		
ANGIOSPERMAE <i>Dicotyledonae</i>	<i>Asterales</i>	<i>Asteraceae</i>
	<i>Cactales</i>	<i>Cactaceae</i>
	<i>Rosales</i>	<i>Leguminosae</i>
	<i>Rutales</i>	<i>Meliaceae</i>
	<i>Sapindales</i>	<i>Anacardiaceae</i>
	<i>Myrtales</i>	<i>Lecythidaceae</i>
		<i>Melastomataceae</i>
<i>Gentianales</i>	<i>Plocospermataceae</i>	
ANGIOSPERMAE <i>Monocotyledonae</i>	<i>Graminales</i>	<i>Poaceae</i>

Tabela 9. Famílias e Ordens de Animais nos Resumos para Isozimas.

FILO	Ordem	Família
<i>Classe</i>		
MOLLUSCA <i>Gastropoda</i>	<i>Mesogastropoda</i>	<i>Littorinidae</i>
ARTHROPODA <i>Insecta</i>	<i>Diptera</i>	<i>Culicidae</i>
		<i>Tephritidae</i>
	<i>Hymenoptera</i>	<i>Apidae</i>
		<i>Vespidae</i>
	<i>Lepidoptera</i>	<i>Pieridae</i>
<i>Orthoptera</i>	<i>Acrididae</i>	
	<i>Romaleidae</i>	
CHORDATA <i>Osteichthyes</i>	<i>Characiformes</i>	<i>Anostomidae</i>
		<i>Characidae</i>
	<i>Siluriformes</i>	<i>Loricariidae</i>
		<i>Pimelodidae</i>
<i>Cypriniformes</i>	<i>Anostomidae</i>	
CHORDATA <i>Aves</i>	<i>Columbiformes</i>	
CHORDATA <i>Mammalia</i>	<i>Rodentia</i>	<i>Cricetidae</i>

Dados de Respostas dos Pesquisadores

Num total de 17 formulários com respostas válidas foi relatado o uso de 180 sistemas, os mais usados estão na Tabela 7 (note que o número máximo possível é 17):

Dos 17 formulários recebidos, 10 tinham por objetivo estudar a variação interespecífica, dos quais metade pretendia fazer inferências filogenéticas e metade comparações entre espécies. Dos 7 restantes, 5 tinham por objetivo estudar a estrutura de populações, ou buscar clines, ou correlação com variáveis ambientais, enquanto apenas 2 eram apenas descritivos.

O número de sistemas usado por trabalho foi em média 11,3, sendo que 2 (11%) com até 5 sistemas; 5 (33%) usando entre 5 e 10; e 9 (50%) entre 10 e 20. O número médio de locos estudados por trabalho foi de 20; sendo 9 trabalhos analisando de 10 até 20 (inclusive), e 7 analisaram 20 ou mais locos. Em média foram analisados 539 indivíduos, sendo que este número variou de 100 a 1516. O número médio de locos analisados por trabalho, isto é, o produto “número total de indivíduos” x “número de locos” foi 9016 e variou de 1000 a 21000.

As famílias e ordens de plantas e animais relatadas pelos pesquisadores nos estudos de isozimas estão nas tabelas 10 e 11, respectivamente.

Tabela 10. Famílias e ordens de Plantas mencionadas pelos pesquisadores nos estudos em Isozimas.

DIVISÃO	ORDEM	FAMÍLIA
<i>Classe</i>		
ANGIOSPERMAE	<i>Asterales</i>	<i>Asteraceae</i>
<i>Dicotyledonae</i>	<i>Cactales</i>	<i>Cactaceae</i>
	<i>Sapindales</i>	<i>Anacardiaceae</i>
ANGIOSPERMAE	<i>Orchidales</i>	<i>Orchidaceae</i>
<i>Monocotyledonae</i>		

Tabela 11. Famílias e ordens de Animais mencionadas pelos pesquisadores nos estudos em Isozimas.

FILO	Ordem	Família
<i>Classe</i>		
MOLLUSCA	<i>Mesogastropoda,</i>	<i>Littorinidae,</i>
<i>Gastropoda</i>	<i>Archaeogastropoda</i>	<i>Patellidae</i>
ARTHROPODA	<i>Diptera</i>	<i>Calliphoridae,</i>
		<i>Drosophilidae</i>
		<i>Oestridae,</i>
		<i>Muscidae</i>
		<i>Tephritidae</i>
	<i>Homoptera</i>	<i>Aphididae</i>
	<i>Lepidoptera</i>	<i>Nymphalidae</i>
CHORDATA	<i>Rodentia</i>	<i>Ctenomyidae</i>
<i>Mammalia</i>	<i>Carnivora</i>	<i>Canidae</i>

6. GENÉTICA MOLECULAR

Praticamente todos os métodos da Genética Molecular empregam as enzimas de restrição. Cada uma destas enzimas reconhece um dado segmento de 4, 5 ou 6 bases do DNA (por exemplo, a enzima *EcoR1* reconhece a seqüência GAATTC) e corta-o num lugar específico. São estas duas propriedades, a localização e o corte específicos, que tornam as enzimas de restrição um poderoso instrumento nas técnicas de DNA recombinante.

Antes de ser propriamente analisado, o DNA precisa ser extraído e preparado. É possível analisar genes que estão representados em cópia única no genoma – ou em amostras de DNA heterogêneo – a partir diretamente das extrações de DNA através da técnica de “Southern blot”. Porém, há atualmente, cada vez mais a tendência de usar duas abordagens que são bastante comuns. A primeira consiste na utilização de material que já se encontra em boa quantidade – porque está repetido no genoma – ou DNA que é relativamente fácil de isolar – por estar numa organela –, por exemplo, o rDNA e o DNA mitocondrial, respectivamente. A segunda consiste na amplificação do segmento que se deseja estudar (por exemplo, com a técnica de PCR), enriquecendo-o em relação ao restante do DNA da célula. Elas têm sobretudo a vantagem de permitir estudos com cada indivíduo isoladamente – mesmo que sejam de espécimens muito pequenos.

A técnica para a purificação do DNA mitocondrial (mtDNA) está descrita didaticamente em *Avisé* (1994). Em primeiro lugar faz-se a dissecação e homogeneização dos tecidos dos quais pretende-se obter o material. A seguir este homogenato é centrifugado, em baixa velocidade para remover os núcleos e restos celulares. Faz-se nova centrifugação, agora em velocidade mais alta, para isolar as mitocôndrias, que a seguir são lavadas e lisadas. Este material é centrifugado num gradiente de cloreto de céσιο e a banda de mtDNA é removida com cuidado. Este mtDNA purificado então pode ser utilizado para análise – com digestão por enzimas de restrição, marcação radioativa, eletroforese e revelação – ou para a preparação de sondas para a detecção de mtDNA em amostras heterogêneas. Há várias alternativas a este método (que não serão discutidas aqui), sobretudo no que tange à centrifugação em gradiente de cloreto de céσιο, que é um processo demorado.

Outro método que merece especial atenção é o **PCR** (“polymerase chain reaction” – reação em cadeia da polimerase) que tem por objetivo a amplificação de um segmento específico de DNA (ou um gene) a partir de uma mistura heterogênea – por exemplo, um isolado total do DNA de células de um organismo. Isto leva a um conseqüente enriquecimento do DNA desejado na mistura original. A descrição a seguir é um resumo e adaptação daquela dada por *Matioli & Passos-Bueno* (2001).

Na técnica de PCR (Fig. 5), empregam-se uma mistura heterogênea de DNA da qual se deseja amplificar um segmento, e “primers”, seqüências de aproximadamente 20 a 30

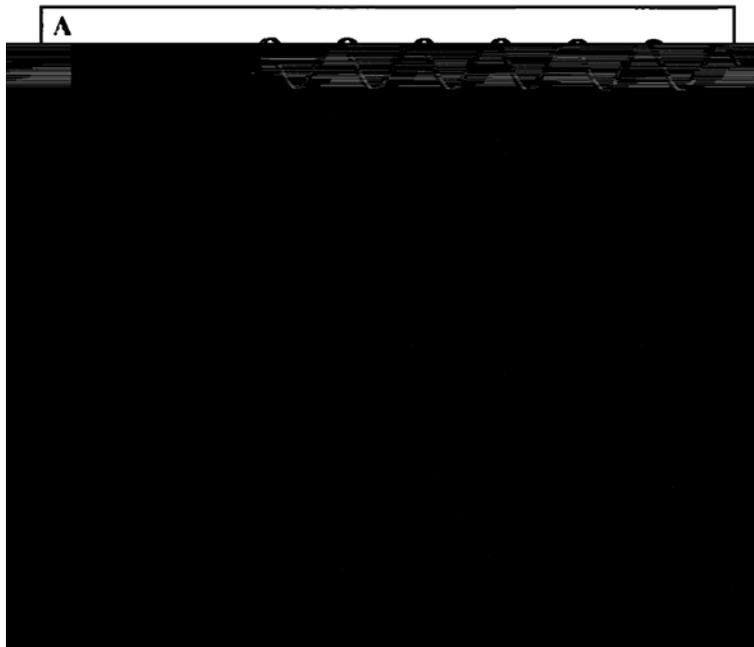


Figura 5. Técnica de PCR. A) Em primeiro lugar desnatura-se o DNA por calor, isto é, separam-se suas duas cadeias; B) Baixada a temperatura os “primers” se ligam especificamente ao DNA alvo; C) a enzima *Taq* polimerase alonga a cadeia de DNA a partir dos “primers” (fonte: Matioli e Passos-Bueno, 2001).

nucleotídeos de comprimento, que têm similaridade com as regiões flanqueadoras do segmento alvo. Os primers podem ter sido obtidos a partir de outro indivíduo da mesma espécie ou até de outra espécie próxima. O primeiro passo no PCR é o isolamento do DNA, que logo, é desnaturado – separam-se as duas fitas complementares – por calor (Fig. 5A). A seguir, baixando a temperatura, anelam-se os primers às regiões flanqueadoras do segmento a ser amplificado (Fig. 5B). E, a enzima *Taq* polimerase (que é termicamente estável) promove a extensão dos primers de forma complementar à região alvo (Fig. 5C). Este processo de denaturação, anelamento, extensão é então repetido por vários ciclos (Fig. 6). Em cada ciclo o segmento alvo é aproximadamente duplicado. Ao final de 20 ciclos o produto envolve uma quantidade com esmagadora maioria do segmento de DNA que se queria amplificar. Este material, pode então ser analisado.

O **RAPD** (“random amplified polymorphic DNA”) é uma técnica que usa estratégia semelhante à do PCR. Só que aqui tomam-se primers pequenos, em que não se conhecem *a priori* os segmentos que flanqueiam. Assim são gerados segmentos de tamanho variável que podem ser visualizados como bandas polimórficas em géis de eletroforese.

A técnica de análise mais informativa, sem dúvidas, é o seqüenciamento do DNA. Atualmente, já há automação e seu custo está razoavelmente baixo. Existem dois métodos

disponíveis: Maxam-Gilbert e Sanger. Este último, no entanto, é o mais usado – por isto só ele

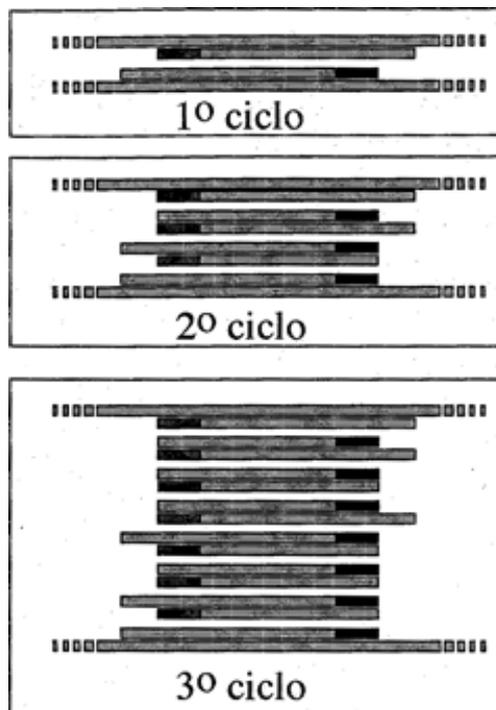


Figura 6. Técnica de PCR. Três primeiros ciclos da reação de PCR mostrando sua natureza exponencial. No primeiro ciclo a quantidade de DNA alvo é duplicada, no segundo é quadruplicada e no terceiro ciclo há oito vezes mais DNA alvo. (fonte: Matioli e Passos-Bueno, 2001).

será descrito (Fig. 7). O segmento de DNA que se quer seqüenciar é desnaturado em fita simples e misturado a um primer que se sabe ser homólogo. Esta mistura é dividida em 4 subamostras. Em cada uma delas há uma enzima (a DNA polimerase) que promoverá a extensão dos primers usando os 4 deoxinucleotídeos acrescentados, sendo um deles marcado radioativamente para posterior revelação. Mas, há também um tipo (diferente em cada uma das subamostras) de dideoxiribonucleotídeo (ddATp, ddCTp, ddGTp, ddTTp) que devido a sua estrutura química interrompe a extensão. A técnica baseia-se na idéia de que a extensão vai se dando até que ocorre a incorporação – aleatória – de um dinucleotídeo, quando ela é interrompida. Ao fim da reação são gerados fragmentos de DNA de diversos tamanhos, correspondendo aos locais onde foram incorporados cada dideoxiribonucleotídeo – que é diferente em cada uma das subamostras. Uma eletroforese posterior colocando as quatro subamostras lado a lado permite ver onde as reações foram interrompidas e por extensão a seqüência do DNA.

Para o seqüenciamento automático usa-se a mesma estratégia. Porém o fragmento a ser seqüenciado é inserido num plasmídeo (m13), e por isto pode-se usar o primer universal M13 em

cada uma das reações. Além disto acrescentam-se nucleotídeos ou dideoxinucléotídeos marcados com fluorocromos que emitem luzes de cores diferentes quando excitados por um feixe de laser. Assim os produtos das quatro reações podem correr numa única raia. Depois de submetidos a eletroforese passam diante de uma fonte de raios laser, e a luz que emitem é detectada por um fotomultiplicador, que será analisada e interpretada pelo computador que a traduzirá na forma de seqüência.

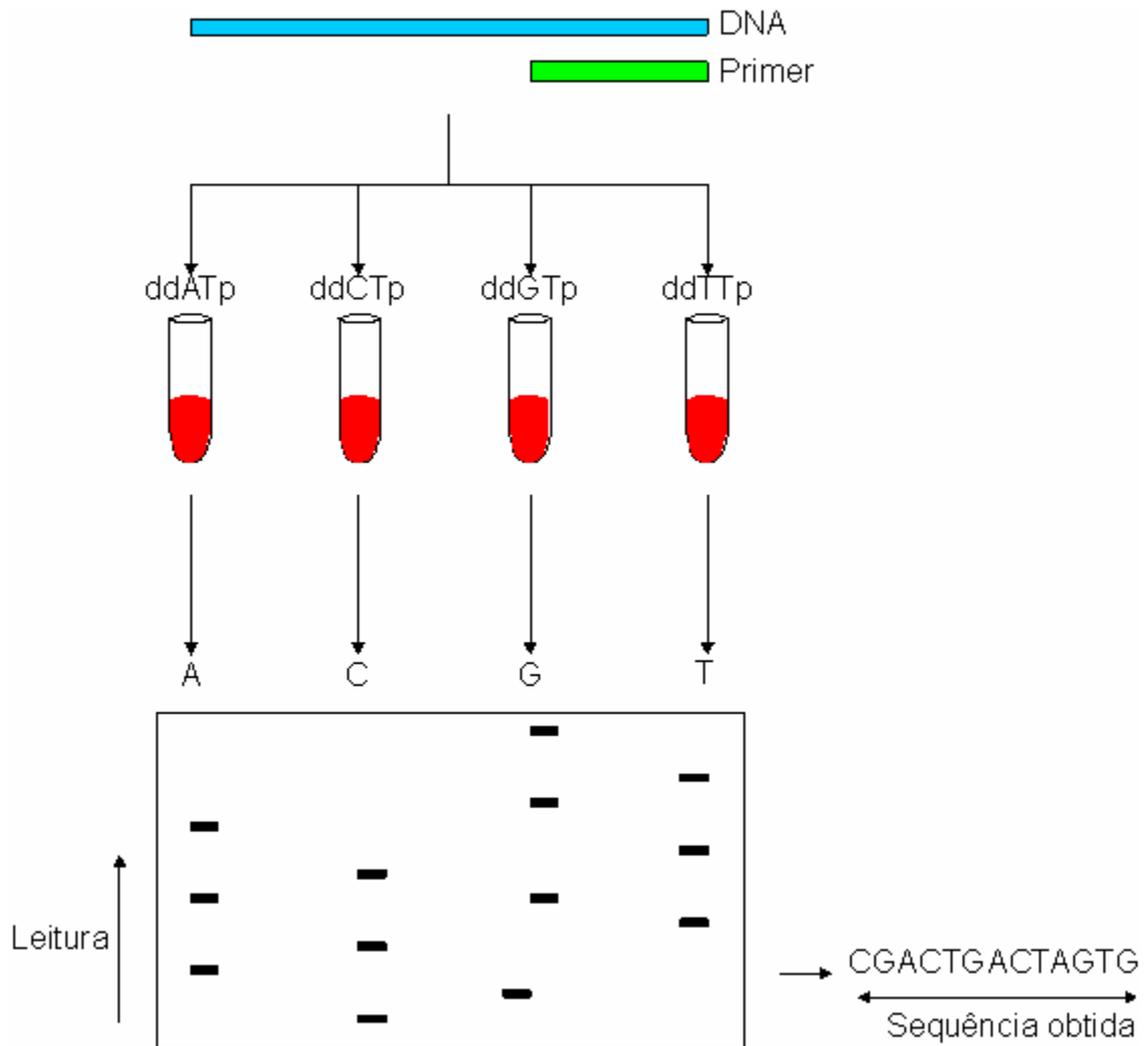


Figura 7. Esquema descrevendo a técnica de seqüenciamento de DNA. (fonte: Dra. Enilza Maria Espreafico, Apostila da disciplina “Genética Molecular e Tecnologia do DNA recombinante” do curso de Medicina da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, disponível *on line* na página: <http://morpheus.fmrp.usp.br/td/apostila.php>, e para download em: http://morpheus.fmrp.usp.br/td/download_apostila.php)

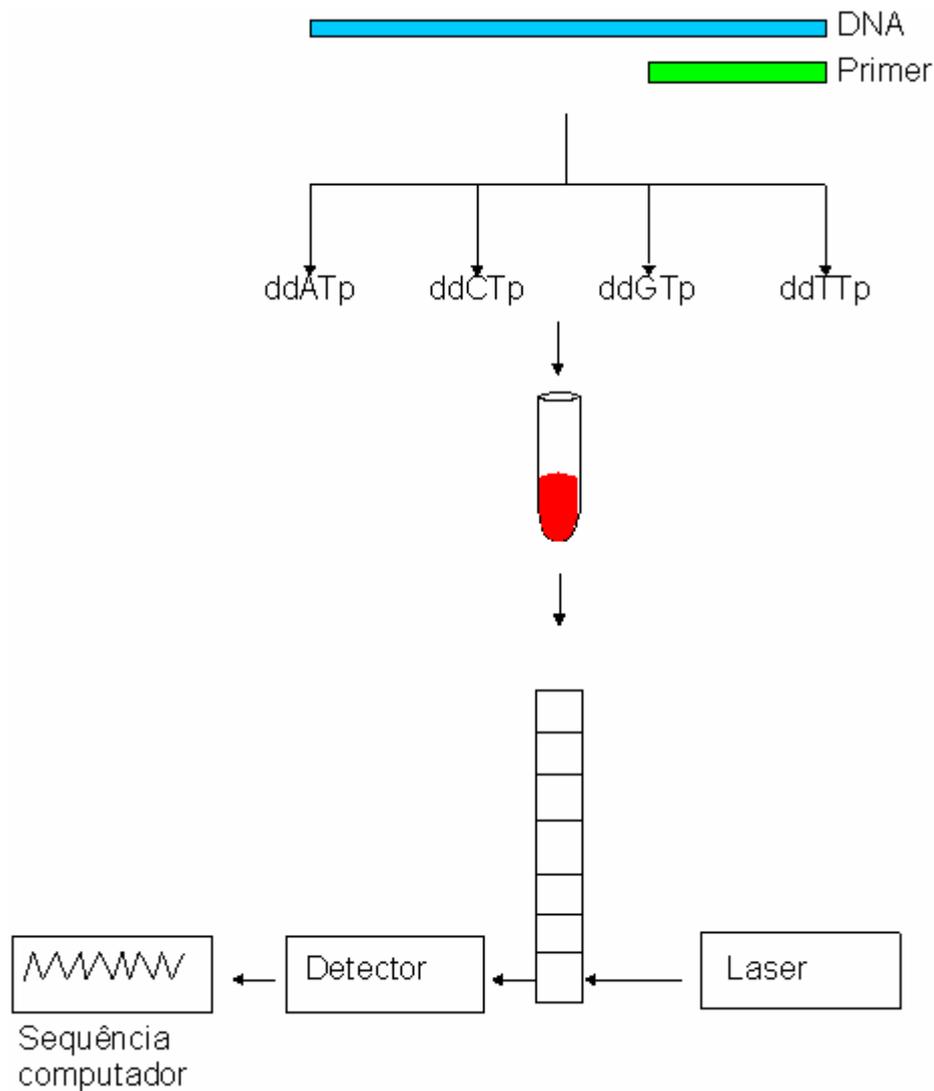


Figura 8. Esquema descrevendo a técnica de sequenciamento automático de DNA. As reações com os diferentes dideoxynucleotídeos são realizadas em um plasmídeo M13, no qual encontra-se clonado o fragmento de DNA a ser sequenciado. Cada uma das misturas de reação contém o primer universal M13 marcado com um fluorocromo diferente. Os produtos de reação são agrupados e submetidos a eletroforese em uma única raia de gel de sequenciamento, no sequenciador automático. A medida que os fragmentos passam pelo feixe de laser, os fluorocromos são excitados e a luz emitida é detectada por um fotomultiplicador. Esta informação é traduzida na forma de sequência através de um computador. (fonte: Dra. Enilza Maria Espreafico, Apostila da disciplina “Genética Molecular e Tecnologia do DNA recombinante” do curso de Medicina da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, disponível *on line* na página: <http://morpheus.fmrp.usp.br/td/apostila.php>, e para download em: http://morpheus.fmrp.usp.br/td/download_apostila.php)

Análise dos Objetivos e Métodos

A ficha para a Genética Molecular continha as mesmas opções de objetivos que a ficha de isozimas.

Em relação aos métodos eram oferecidas as seguintes alternativas (além de espaço para outros):

1. RFLP;
2. PCR-RFLP;
3. RAPD;
4. Microssatélites;
5. Seqüenciamento.

O formulário solicitava também a descrição da origem do material, se mtDNA; cpDNA; ou DNA genômico; e deixava espaço (caso fosse pertinente mencionar o gene – ou a região de DNA – analisado).

Dados do Congresso da Sociedade Brasileira de Genética

Dos 38 resumos com respostas informativas, 20 (53%) usaram como método o seqüenciamento, que é a técnica mais sofisticada e informativa da Genética Molecular; 4 (13%) trabalharam com RFLP ou microssatélites; 4 com outras técnicas e 9 (24%) com RAPD (a menos informativa das técnicas). Dos 40 trabalhos 1 usou DNA mitocondrial e nuclear, 25 só nuclear, 13 DNA mitocondrial e 1 DNA de cloroplasto. Dos 20 trabalhos de seqüenciamento, 7 usaram o gene da citocromo oxidase da mitocôndria.

A análise dos objetivos dos trabalhos revelou que 23 se propunham a estudar a variação interespecífica, sendo 19 (83%) para inferências filogenéticas; 7 caracterização de estrutura de populações ou correlação com variáveis ambientais ou outros; 10 (25%) objetivos mais descritivos. As famílias e ordens de plantas e animais mencionadas estão nas Tabelas 12 e 13.

Tabela 12 . Famílias e Ordens de Plantas nos Resumos de Genética Molecular.

DIVISÃO	ORDEM	FAMÍLIA
Classe		
ANGIOSPERMAE <i>Dicotyledonae</i>	<i>Rosales</i>	<i>Leguminosae</i>
	<i>Geraniales</i>	<i>Euphorbiaceae</i>
	<i>Sapindales</i>	<i>Anacardiaceae</i>
	<i>Violales</i>	<i>Passifloraceae</i>
ANGIOSPERMAE <i>Monocotyledonae</i>	<i>Liliales</i>	<i>Iridaceae</i>

Tabela 13. Famílias e Ordens de Animais nos Resumos de Genética Molecular.

FILO	ORDEM	FAMÍLIA
Classe		

ARTHROPODA	<i>Insecta</i>	<i>Diptera</i>	<i>Calliphoridae</i>
			<i>Drosophilidae</i>
		<i>Hymenoptera</i>	<i>Apidae</i>
		<i>Lepidoptera</i>	<i>Nymphalidae</i>
		<i>Orthoptera</i>	
ARTHROPODA	<i>Chelicerata</i>	<i>Acari</i>	<i>Tenuipalpidae</i>
CHORDATA	<i>Osteichthyes</i>	<i>Characiformes</i>	<i>Anostomidae</i>
			<i>Characidae</i>
CHORDATA	<i>Aves</i>	<i>Psittaciformes</i>	
CHORDATA	<i>Mammalia</i>	<i>Primates</i>	<i>Atelidae</i>
			<i>Callitrichidae</i>
			<i>Cebidae</i>
		<i>Rodentia</i>	<i>Caviidae</i>
			<i>Cricetidae</i>
			<i>Dasyproctidae</i>
			<i>Echimyidae</i>
			<i>Erethizontidae</i>

Dados de Respostas dos Pesquisadores

Dos 24 formulários retornados, 17 (74%) usaram o seqüenciamento; 4 (17%) RFLP ou microsatélites; 2 outras técnicas e 1 (4%) apenas RAPD. Do total de 24 trabalhos, 7 usaram DNA mitocondrial e nuclear, 12 só DNA mitocondrial e 5 só nuclear, ou seja mitocondrial em 19 vezes (79%) e nuclear 12 vezes (50%). Dos 17 trabalhos de seqüenciamento, 6 (35%) usaram o gene do citocromo B da mitocôndria.

Os objetivos expressos nos formulários preenchidos pelos pesquisadores eram: 18 (75%) sobre variação interespecífica, sendo todos para inferências filogenéticas; 2 (8%) para caracterização de estrutura de populações ou correlação com variáveis ambientais ou outros; e, 4 (17%) objetivos mais descritivos.

As famílias e ordens dos Animais relatados pelos pesquisadores nos estudos de Genética Molecular estão na Tabela 14. Para as plantas apenas a família Cactaceae foi citada.

7. CARACTERÍSTICAS QUANTITATIVAS

Quanto mais nos aproximamos do fenótipo, mais nos afastamos do genótipo. A seleção natural atua sobre o fenótipo, mas só é efetiva em proporção direta à variância genética.

A maior parte da variação fenotípica é de natureza contínua, normalmente determinada por muitos fatores – genéticos e ambientais. Estas características são freqüentemente chamadas de quantitativas, ou de determinação multifatorial ou poligênica. Mas, há também as características fenotípicas que apresentam variação qualitativa ou descontínua: são aquelas que tipicamente deram origem à Genética Mendeliana. Quando numa população encontramos duas ou mais formas

de uma característica ela é chamada de polimórfica. Os caracteres não-moleculares polimórficos são minoria quando comparados aos de determinação multifatorial. No entanto, a distinção entre as duas categorias é muitas vezes difícil ou quase arbitrária. Fizemos uma ficha diferente para cada caso. Como esperado, as respostas para polimorfismo foram em muito menor número. Além disto, houve vezes que os pesquisadores responderam na ficha de polimorfismo o que nos parecia dever estar na ficha de caracteres quantitativos ou em Citogenética – o que nós mesmos tentamos corrigir. Isto revela que as instruções para o preenchimento destas fichas não foram suficientemente inequívocas.

Tabela 14. Famílias e ordens de animais mencionadas pelos pesquisadores nos estudos de Genética Molecular.

FILO	Classe	ORDEM	FAMÍLIA
PLATYHELMINTHES	<i>Cestoda</i>	<i>Cyclophyllidea</i>	<i>Taeniidae</i>
ARTHROPODA	<i>Insecta</i>	<i>Diptera</i>	<i>Calliphoridae</i>
			<i>Drosophilidae</i>
			<i>Oestridae</i>
			<i>Muscidae</i>
			<i>Tephritidae</i>
		<i>Hymenoptera</i>	<i>Apidae</i>
		<i>Lepidoptera</i>	<i>Nymphalidae</i>
CHORDATA	<i>Osteichthyes</i>	<i>Characiformes</i>	<i>Characidae</i>
			<i>Erithrynidae</i>
			<i>Prochilodontidae</i>
			<i>Serrasalminidae</i>
CHORDATA	<i>Reptilia</i>	<i>Squamata</i>	<i>Viperidae</i>
CHORDATA	<i>Aves</i>	<i>Ciconiiformes</i>	<i>Threskiornithidae</i>
		<i>Pelecaniformes</i>	<i>Sulidae</i>
		<i>Psittaciformes</i>	<i>Psittacidae</i>
		<i>Galliformes</i>	<i>Cracidae</i>
		<i>Piciformes</i>	<i>Ramphastidae</i>
CHORDATA	<i>Mammalia</i>	<i>Marsupialia</i>	<i>Didelphidae</i>
		<i>Rodentia</i>	<i>Echimyidae</i>
		<i>Primates</i>	<i>Callitrichidae</i>

Para as características quantitativas é importante determinar a herdabilidade – a proporção da variabilidade fenotípica que é genética – visto que a resposta a seleção é diretamente proporcional a ela. A herdabilidade pode ser estimada usando-se o grau de correlação entre aparentados. Por exemplo, o coeficiente angular da reta de regressão do valor da média dos filhos sobre os valores médios de seus pais estima a herdabilidade de uma característica numa população.

Há outras formas de fazer estimativas da herdabilidade, entre elas a seleção artificial. Neste caso, porém, uma vez conseguidas estirpes que diferem muito – divergiram muito – no valor

do caráter pode-se também estimar o número mínimo de fatores genéticos (genes) que o determinam.

Com auxílio das técnicas da Genética Molecular revelou-se uma enorme variedade genética nas populações. Isto teve a consequência prática de colocar à disposição de pesquisadores um sem número de marcadores genéticos. Obtendo-se estirpes que estejam muito diferenciadas para um determinado caráter pode-se localizar os locos responsáveis por sua determinação (**QTL**: “quantitative trait loci”). Para isto realizam-se cruzamentos apropriados entre as estirpes e faz-se uma análise simultânea do caráter e de marcadores genéticos. Este é provavelmente o objetivo mais sofisticado da moderna Genética Quantitativa. Mais que isto, ele permite unir dois campos que até recentemente estavam separados: a Genética Molecular e a Genética Quantitativa.

As características quantitativas são tipicamente influenciadas pelo genótipo e pelo ambiente. Assim, a determinação da influência de fatores ambientais torna-se importante na compreensão da variação encontrada. A forma mais simples – mas, não a única – de alcançar este objetivo é efetuar a análise de estirpes endocruzadas em experimentos em condições ambientais controladas.

Alguns dos usos mais diretos das características quantitativas são: a análise da variação geográfica e as comparações interespecíficas buscando a simples descrição de diferenças ou fazendo inferências filogenéticas e estudos de híbridos. Nestes casos normalmente utilizam-se vários caracteres simultaneamente. Para resumir, condensar ou tornar possível a análise usam-se métodos estatísticos multivariados. Dentre eles podem-se destacar a análise de componentes principais (**PCA**) e a análise discriminante.

Análise dos Objetivos

No formulário de Caracteres Quantitativos os seguintes itens foram colocados como opção para os objetivos do trabalho:

1. Determinar herdabilidade;
2. Estimar número de fatores que determinam padrão de herança;
3. QTLs;
4. Influência de fatores ambientais;
5. Caracterizar variação intrapopulacional;
6. Estudar variação geográfica;
7. Comparações entre espécies;
8. Inferências filogenéticas e estudos de híbridos.

Métodos

As seguintes opções de métodos foram apresentadas na ficha para caracteres quantitativos:

1. Correlações entre aparentados;

2. Seleção artificial;
3. Correlação com marcadores genéticos;
4. Análise de estirpes endocruzadas;
5. Análises estatísticas multivariadas (PCA, discriminante, etc.);
6. Experimentos em condições ambientais controladas;
7. Correlação com variáveis ambientais.

Além disso o formulário solicitava que fosse mencionado o tipo de caráter: morfológico; comportamental; fisiológico; (outros). Solicitava também a listagem dos caracteres estudados.

Dados do Congresso da Sociedade Brasileira de Genética

Nos Resumos do Congresso da SBG encontramos 22 dedicados à análise de caracteres quantitativos. Destes, 3 tinham por objetivo determinar a herdabilidade; 4 caracterizar a variação intrapopulacional; 2 estudar a variação geográfica; 2 comparações entre espécies; 2 inferências filogenéticas; e 3 determinar a influência de fatores ambientais.

Entre os resumos examinados 11 (50%) usaram análises estatísticas multivariadas, 4 fizeram experimentos em condições ambientais controladas e 2 a análise de estirpes endocruzadas. Os caracteres estudados foram: 15 morfológicos (incluindo medidas da asa em insetos ou tamanho de plantas); 8 fisiológicos incluindo componentes da tabela de vida (velocidade de desenvolvimento, fecundidade, viabilidade) e aspectos diversos da biologia do organismo.

As famílias e ordens de plantas e animais relatadas nos resumos estão nas tabelas 15 e 16, respectivamente.

Tabela 15. Famílias e Ordens de Plantas nos Resumos na Área de Características Quantitativas.

DIVISÃO	Classe	ORDEM	FAMÍLIA
ANGIOSPERMAE	<i>Dicotyledonae</i>	<i>Rosales</i>	<i>Leguminosae</i>
		<i>Sapindales</i>	<i>Anacardiaceae</i>
		<i>Malvales</i>	<i>Sterculiaceae</i>
		<i>Scrophulariales</i>	<i>Bignoniaceae</i>

Tabela 16. Famílias e Ordens de Animais nos Resumos na Área de Características Quantitativas.

FILO	Classe	ORDEM	FAMÍLIA
ARTHROPODA	<i>Insecta</i>	<i>Coleoptera</i>	<i>Cantharidae</i>
		<i>Diptera</i>	<i>Sciaridae</i>
			<i>Drosophilidae</i>
			<i>Phoridae</i>
			<i>Tephritidae</i>
<i>Hymenoptera</i>	<i>Apidae</i>		

	<i>Chalcididae</i>
<i>Lepidoptera</i>	<i>Nymphalidae</i>

Dados de Respostas dos Pesquisadores

Nas 20 fichas preenchidas pelos pesquisadores consultados, 10 relataram ter como objetivo a análise interespecífica, sendo: 7 para inferência filogenética e estudo de híbridos e 3 para comparação entre espécies. Das outras 10 relacionadas a estudos intraespecíficos: 4 pretendiam estimar a herdabilidade; 5 eram descritivas (variação intrapopulacional ou geográfica); e 1 pretendia estudar o significado biológico.

Dos métodos relatados, 9 eram de correlação entre aparentados, seleção artificial ou uso de marcadores; 4 análise de estirpes ou experimentos em condições controladas ou correlações com variáveis ambientais. Finalmente, 12 trabalhos usaram análise multivariada. Dos caracteres estudados, 17 eram morfológicos, 1 comportamental e 2 fisiológicos.

A lista das famílias e ordens de animais estudados está na Tabela 17. Para as plantas apenas a família *Anacardiaceae* foi relatada.

Tabela 17. Ordens e Famílias de Animais Relatadas pelos Pesquisadores nos Estudos de Características Quantitativas.

FILO	Classe	ORDEM	FAMÍLIA
ARTHROPODA	<i>Insecta</i>	<i>Diptera</i>	<i>Drosophilidae</i>
			<i>Tephritidae</i>
		<i>Homoptera</i>	<i>Aphididae</i>
		<i>Hymenoptera</i>	<i>Apidae</i>
		<i>Lepidoptera</i>	<i>Nymphalidae</i>
MOLLUSCA	<i>Gastropoda</i>	<i>Mesogastropoda</i>	<i>Littorinidae</i>
CHORDATA	<i>Aves</i>	<i>Psittaciformes</i>	<i>Psittacidae</i>
CHORDATA	<i>Mammalia</i>	<i>Rodentia</i>	<i>Sigmodontinae</i>
			<i>Echimyidae</i>

8. POLIMORFISMOS

Quando se estuda um polimorfismo, em geral, a primeira questão que se tenta responder é o modo de herança, através dos cruzamentos apropriados.

Análise dos Objetivos e Métodos

Para caracterizar os estudos de polimorfismos coloquei na ficha espaço para resposta aos objetivos e métodos simultaneamente, com os seguintes itens:

1. Determinação do modo de herança;
2. Influência de fatores ambientais;
3. Distribuição geográfica e comparações entre populações;
4. Ocorrências de clines e/ou correlações com o ambiente;
5. Correlação de com variáveis genéticas, morfológicas ou fisiológicas;
6. Determinação de possível significado biológico;
7. Comparações e/ou diferenças entre espécies.

Além disto solicitamos a menção do caráter estudado.

Nos Resumos do Congresso da SBG encontramos 4 ligados ao estudo de polimorfismo sendo que todos pretendiam determinar modo de herança; 1 a influência de fatores ambientais; 1 a distribuição geográfica e comparação entre populações; e 2 determinar o possível significado biológico do polimorfismo. Os caracteres envolviam a determinação sexual e padrões de cores.

Entre as fichas preenchidas pelos pesquisadores, 4 no total, 3 pretendiam determinar o modo de herança, 1 estudar a influência de fatores ambientais, 1 determinar o possível significado biológico e 2 verificar diferenças entre espécies.

As características estudadas foram: proporção sexual; tamanho do cromômero; e parâmetros morfológicos para o dimorfismo sexual. Os estudos foram realizados com insetos das Ordens Diptera (Sciaridae), e Hymenoptera (Meliponinae, abelhas sem ferrão) e Aves (Ramphastidae, tucanos).

9. CONCLUSÕES

O desenvolvimento de um trabalho como este encontra naturalmente dificuldades. A primeira delas é obter uma boa taxa de retorno dos formulários enviados. Desde o início delineamos o trabalho levando isto em conta. Assim, utilizamos os Resumos do Congresso como uma fonte complementar. Além disto, para melhorar a taxa de retorno enviamos, primeiro, por correio o material de consulta aos pesquisadores. Na ausência de resposta, mandamos um e-mail com formulários anexados reforçando o pedido. No final conseguimos obter um retorno de 33 dos 80 formulários enviados (41%). Esta taxa de retorno é bastante satisfatória para este tipo de consulta – freqüentemente consegue-se algo em torno de 10%.

Finalmente, para suprir falhas e melhorar o grau de certeza de que as grandes lacunas encontradas eram reais e não devido a dados insuficientes, consultamos o Biological Abstracts

(1998 e 1999) e o Zoological Record (vols. 122 a 135). Fizemos um levantamento bibliográfico para os principais grupos de plantas e animais usando palavras-chaves apropriadas para a detecção da existência de pesquisas em biodiversidade genética no Brasil.

A maior dificuldade que encontramos foi a caracterização das informações do ponto de vista biogeográfico. As informações que conseguimos foram muito heterogêneas e pouco completas ou imprecisas (por exemplo, alguns pesquisadores responderam “América Latina” ou “Brasil” como localidades de coleta). Isto impede qualquer tentativa de quantificação e quase impossibilita a análise. Ainda assim é possível examinar os dados qualitativamente, olhando os estados do Brasil de forma global. Mas, há que ser cauteloso quanto às conclusões.

Desta forma podemos apontar São Paulo, Minas, Rio Grande do Sul, Mato Grosso do Sul, Rio de Janeiro e Pará como os estados mais estudados. Semelhantemente, avaliamos, de maneira geral o litoral (Mata Atlântica, rios costeiros, bacia do Paraná), a região amazônica (Floresta e Bacia Amazônicas), e o cerrado – em São Paulo, Minas e Mato Grosso do Sul – como melhor estudados. Há trabalhos no Pantanal, mas são menos intensos. Finalmente, as regiões que nos parecem ser menos estudadas – ainda que sejam citadas – são a Caatinga e *principalmente* a região central, Goiás, Mato Grosso e Tocantins.

Examinando o conjunto geral dos dados, resumos e respostas dos pesquisadores, vemos que os táxons mais estudados entre os animais são: os insetos – principalmente os dípteros e himenópteros –, os peixes, os mamíferos – em especial, os roedores e os primatas – e as aves. Nas plantas há uma clara concentração em dicotiledôneas (ênfase em orquídeas e cactos).

As maiores lacunas entre as plantas são as briófitas (musgos e hepáticas), as pteridófitas (samambaias) e as gimnospermas (pinheiros, entre outras) que não estão citadas em nenhum dos conjuntos de dados (resumos ou consulta a pesquisadores). Da mesma forma a pesquisa bibliográfica no Biological Abstracts é infrutífera na detecção de trabalhos sobre biodiversidade genética no Brasil nestes táxons.

Já para os animais, as grandes lacunas são os equinodermas (ouriços e estrelas-do-mar); anelídeos (minhocas) e os cefalópodes e pelecípodes entre os gastrópodes. Mas, mesmo entre táxons bem estudados como os mamíferos nota-se a total ausência de felídeos (gatos em geral). Para todos estes grupos nenhum trabalho se encontra referenciado no Zoological Record sobre biodiversidade genética no Brasil. Finalmente, entre os insetos não encontramos em nossos dados citação aos hemípteros (percevejos), ainda que no Zoological Record haja muitas referências de trabalhos com reduvídeos (a família dos barbeiros).

O processo de coleta de informações para a preparação deste trabalho foi duplo: a utilização de resumos de Congresso da SBG e a consulta a pesquisadores. É difícil estabelecer *a priori* qual dos dois conjuntos de dados melhor representa a comunidade científica brasileira. E, sobretudo em que medida refletem o estado atual do conhecimento sobre biodiversidade genética. Cada um deles terá seus vieses.

Uma fonte de viés que nosso trabalho deixa clara é a taxa de resposta dos pesquisadores das diferentes regiões do País. Isto provavelmente tem um interesse que vai além do puro artefato estatístico. Ainda que seja uma especulação, cremos que vale a pena refletir se, o que estamos detectando é um reflexo de diferentes graus de profissionalismo nas comunidades científicas. Os pesquisadores paulistas estão acostumados a lidar com entidades financiadoras como a FAPESP que têm prazos e exigências, mas que também os apoiam sistematicamente. Talvez isto lhes faça responder prontamente e dar maior valor à divulgação de seu próprio trabalho.

Outra fonte de viés foi o fato dos pesquisadores consultados serem o que há de melhor no País. Assim, estes dados superestimam a qualidade do que se faz. No entanto, eles estarão sinalizando provavelmente nosso limite superior.

Quando comparamos os resultados dos dois conjuntos de dados, verificamos que é isto que de fato ocorre. Na Citogenética, apenas 6% dos Resumos da SBG mostrou empregar técnicas de hibridização *in situ* ou cromossomos politênicos, enquanto 36% eram cariótipo simples ou apenas contagem de cromossomos, isto é, as técnicas mais simples são mais usadas que as mais sofisticadas. Nas respostas dos pesquisadores este padrão está invertido: 52% e 12% para as duas técnicas, respectivamente. De qualquer forma, a maior parte dos trabalhos já usa técnicas com algum grau de sofisticação – ao menos algum tipo de bandeamento.

Semelhantemente, a maioria dos resumos tinha objetivos estritamente descritivos (52%) enquanto que este número se reduz nas fichas preenchidas pelos pesquisadores (30%). Mais que isto, a proporção de trabalhos buscando fazer inferências filogenéticas – ao invés da simples comparação entre espécies – na análise da variação interespecífica, aumenta de 36% para 81% nos dois conjuntos de dados.

Nos estudos de isozimas o mesmo padrão aparece: nos resumos da SBG o número médio de locos analisado é 12,1; sendo que 42% dos trabalhos analisaram menos de 10 locos. Nas respostas dadas pelos pesquisadores o número médio de locos analisado é 20 – aliás, este é exatamente o mesmo valor para o número médio de locos na revisão feita por Avise (1994)! – e todos relataram usar pelo menos 10 locos.

Para a Genética Molecular, 50% dos resumos da SBG relataram o uso de seqüenciamento, número que sobe para 74% entre as respostas dadas pelos pesquisadores. Em relação aos objetivos, nos estudos sobre variação interespecífica, nos resumos 83% são para inferências filogenéticas, enquanto que nas respostas dos pesquisadores são todos. Isto mostra que provavelmente este é o campo da Genética que está utilizando as metodologias mais modernas a sua disposição. Além disto parece menor a diferença entre resumos e respostas de pesquisadores.

Os dados de estudos dos caracteres quantitativos nos Resumos da SBG são um conjunto até certo ponto heterogêneo. Uma proporção pequena (18%) esteve dedicada aos estudos interespecíficos; e 27% tinham objetivo apenas descritivo. Nos dados dos pesquisadores, de 10 respostas relacionadas à variação interespecífica, 7 buscavam fazer inferências filogenéticas.

Deve-se notar, no entanto, que em ambos os casos, nenhuma das respostas acusava o objetivo de estudar QTLs, e poucas faziam correlações com variáveis genéticas. E estes são justamente os tópicos mais modernos no campo.

Levando em conta todos os dados apresentados e as considerações feitas acima, acreditamos que podemos dizer que o Brasil se encontra numa posição razoável/boa. Para os grupos taxonômicos melhor estudados (insetos – dípteros, himenópteros –, mamíferos – roedores e primatas – os peixes e as aves), para as áreas da genética que estão mais avançadas (isozimas e genética molecular) e para os grupos de pesquisa melhor preparados, o trabalho em andamento não deixa a desejar. No entanto, há muito a fazer, há grandes lacunas.

A tarefa do estudo da biodiversidade genética é gigantesca em qualquer país do mundo. Não há lugar onde se possa dizer que já se sabe o suficiente, nem sequer que já se sabe muito! Só nos últimos 20 anos é que as ferramentas mais importantes da genética foram desenvolvidas, e só na última década é que seu preço está se tornando acessível. Portanto, o Brasil não é exceção. Há muitíssimo a ser feito, em todos os grupos, inclusive nos mais estudados. Aliás, estes têm o papel de modelo experimental para o trabalho a ser feito com os demais grupos de organismos.

Há também as grandes lacunas do conhecimento da biodiversidade genética no Brasil. Elas são de três tipos: quanto ao táxon, quanto à região geográfica e quanto à área da genética. Em síntese podemos dizer que os anelídeos, os equinodermas, os moluscos (cefalópodes e pelecípodes) e os felídeos são animais que precisam urgentemente ser estudados. Destes talvez a ausência mais estarrecedora seja a dos felídeos. A importância ecológica da onça – e dos outros gatos selvagens – bem como desta espécie estar ameaçada de extinção e, também, de suas populações estarem quase certamente sofrendo forte ação da deriva genética fazem-na um material e uma oportunidade ímpar para o estudo da manutenção de diversidade genética nas populações naturais. Entre as plantas as briófitas, pteridófitas e gimnospermas são aquelas em que há falta *total* de informações. O Centro Oeste é a região do Brasil que mais necessita de estudos. Finalmente, uma análise genética moderna de características quantitativas no contexto do estudo da biodiversidade genética é uma lacuna importante a ser preenchida. Notadamente, na busca da caracterização de **QTLs**, que representam a síntese desejada entre fenótipo e genótipo.

10. REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A. C. 1998. (Ed.) Eletroforese de Isozimas e Proteínas Afins. Fundamentações e Aplicações em Plantas e Microorganismos. Editora U. F. Viçosa. Viçosa.
- AVISE, J. C. 1994. Molecular Markers, Natural History and Evolution. Chapman & Hall. New York.
- CHETVERIKOV, I. 1926. (tradução para o inglês por M. Barker, 1966). On certain aspects of the evolutionary process from the standpoint of modern genetics. Proc. Amer. Phil. Soc. **105**, 167-195.
- FALCONER, D. S. & MACKAY, T. F.C. 1996. Introduction to Quantitative Genetics. 4th Ed. Longman Group Ltd. London, UK. 464 pp.

- FARAH, S. B. 1997. DNA Segredos & Mistérios. 1ª. Ed. Sarvier Edit. Livros Médicos Ltda. São Paulo SP. 276 pag.
- FUTUYMA, D. J. 1995. Biologia Evolutiva. 2ª ed. Tradução de Mario de Vivo. Sociedade Brasileira de Genética. Ribeirão Preto SP. 631 pag.
- FISHER, R. A. 1930. The Genetical Theory of Natural Selection. Clarendon Press. Oxford.
- GRIFFITH, A. J. F., J. H. MILLER, D. T. SUZUKI, R. C. LEWONTIN, W. M. GELBART. 1996. An Introduction to Genetic Analysis. W. H. Freeman and Co. New York.
- GUERRA, M. 1987. Introdução à Citogenética Geral. 1ª ed. Editora Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro RJ. 142 pag.
- HALDANE, J. B. S. 1932. The Causes of Evolution. Harper and Brothers. New York.
- HARRIS, H. 1966. Enzyme polymorphism in man. Proc. Royal Soc. (London) Ser. B **164**, 298-310.
- HARTL, D. L. 1980. Principles of Population Genetics. Sinauer Ass., Inc. Sunderland, Massachussets.
- HARTL, D. 2000. A Primer of Population Genetics. 3rd Ed. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, MA. 221 pp.
- HUBBY, J. L & R. C. LEWONTIN. 1966. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations: I. Genetics **54**, 527-554.
- Karp, G. 1996. Cell and Molecular Biology. 1st. Ed. John Wiley & Sons, Inc. New York, NY. 780 pp.
- KLUG, W. C. & M. R. CUMMINGS. 1997. Concepts of Genetics. Prentice Hall. Upper Saddle River. New Jersey.
- LEWONTIN, R. C. & J. L. HUBBY. 1966. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations: II. Genetics **54**, 595-605.
- LEWONTIN, R. C. 1974. The Genetic Basis of the Evolutionary Process. Columbia University Press. New York.
- MANLY, B. F. J. 1994. Multivariate Statistical Methods A Primer. 2nd. Ed. Chapman & Hall. London, UK. 215 pp.
- MATIOLI, S. R. 2001. Biologia Molecular e Evolução. Holos Editora. Ribeirão Preto.
- MATIOLI, S. R. & M. R. S. PASSOS-BUENO. 2001. Métodos bBseados em PCR para Análise de Polimorfismos de Ácidos Nucléicos. In: MATIOLI, S. R. 2001. Biologia Molecular e Evolução. Holos Editora. Ribeirão Preto.
- RIDLEY, M. 1996. Evolution. 2nd Ed. Blackwell Science. Cambridge, MA. 719 pp.
- SOLFERINI, V. N. & D. SELIVON. 2001. Polimorfismos de Enzimas. In: MATIOLI, S. R. 2001. Biologia Molecular e Evolução. Holos Editora. Ribeirão Preto.
- WRIGHT, S. 1931. Evolution in Mendelian populations. Genetics **16**, 97-159.
- WRIGHT, S. 1932. The roles of mutation, inbreeding, crossbreeding and selection in evolution. Proc. VI Intern. Congr. Genetics **1**, 356-366.

11. AGRADECIMENTOS

É um prazer agradecer a Carlos A. C. Andrade e Luciane Hatadani que leram o texto fazendo sugestões importantes. A Dra. Anete Pereira de Souza leu a parte de Genética Molecular e Julia Klaczko auxiliou-nos com a Taxonomia de peixes. Os Drs. Denise Pontes Cavalcanti, Denise Selivon, Enilza Maria Espreafico, Galina Ananina, Maria E. Infante-Malachias, Maria Rita Passos-Bueno, Sergio Matioli e Vera Solferini autorizaram-nos a usar figuras; o mesmo se dando com os Drs. Dalton Amorim e Judite N.

Guagnoni da Holos Editora. É importante ressaltar que este trabalho só foi possível graças às respostas dadas pelos pesquisadores. Vários pesquisadores indicaram outros que não haviam sido contatados e até mesmo fizeram cópias dos formulários e as distribuíram, entre eles destacaria os Drs. Aldo M. Araujo e Andre Perondini. Quando montamos o formulário, pensamos que respondê-lo seria bem rápido, não mais que 10 minutos, porém vários colegas relataram que gastaram bem mais de meia hora. A todos agradecemos o tempo dedicado e a confiança expressa em sua ajuda.

ANEXO 1: PESQUISADORES QUE PREENCHERAM OS FORMULÁRIOS, ÁREAS DA GENÉTICA EM QUE ATUAM E ORDENS E FAMÍLIAS QUE ESTUDAM.

Os pesquisadores que preencheram os formulários nas diferentes áreas têm seus nomes mostrados na Tabela 18, bem como as Ordens e Famílias das plantas e animais que estudam.

Tabela 18. Pesquisadores que preencheram os formulários das áreas da Genética e Ordens e Famílias de Plantas e Animais que estudam. Os respectivos endereços institucionais estão no rodapé. **CIT**: Citogenética; **ISO**: Isozimas; **GM**: Genética Molecular; **CQ**: Caracteres Quantitativos; **POL**: Polimorfismos.

PESQUISADOR	CIT	ISO	GM	CQ	POL	ORDEM	FAMÍLIA
ALDO MELLENDER DE ARAÚJO ¹		X	X	X		Lepidoptera	Nimphalidae
ALICE KALISZ DE OLIVEIRA ¹		X		X		Homoptera	Aphididae
ANA MARIA L. AZEREDO-ESPIN ²		X	X			Diptera	Oestridae Muscidae Calliphoridae
ANDRE LUIZ P. PERONDINI ³					X	Diptera	Sciaridae
ANITA WAJNTAL ³			X			Psitaciformes	Psittacidae
						Galliformes	Cracidae
						Piciformes	Ramphastidae
						Ciconiiformes	Threskiornithida e
						Pelecaniformes	Sulidae
ANTONIO MATEO SOLÉ CAVA ⁴			X			Pelecypoda	Mytilidae
						Chondrosida	Chondrillidae
CARLOS RIBEIRO VILELA ³	X			X		Diptera	Drosophilidae
DENISE SELIVON ³	X	X		X	X	Diptera	Tephritidae
ELIANA FELDEBERG ⁵			X			Characiformes	Anostomidae
						Perciformes	Curimatidae
		X		X		Siluriformes	Serrasalminidae Cichlidae Sciaenidae Callichthyidae
ELIANA MORIELLE VERSUTE ⁶	X					Chiroptera	Phyllostomidae Molossidae
EUCLEIA PRIMO BETIOLI CONTEL ⁷		X				Carnivora	Canidae
FÁBIO DE MELO SENE ⁷	X	X	X	X	X	Diptera	Drosophilidae
GUARACY TADEU ROCHA ⁸	X		X		X	Artiodactyla	Tayassuidae
						todas as ordens de Aves	
						Tinamiformes	Tinamidae
						Passeriformes	Emberizidae

						Ciconiformes	Threskiornithidae
						Piciformes	Ramphastidae
KAREN LUISA HAAG ¹			X			Cyclophyllidea	Taeniidae
LOUIS BERNARD KLACZKO ²	X			X	X	Diptera	Drosophilidae

Tabela 18. (continuação)

PESQUISADOR	CIT	ISO	GM	CC	POL	ORDEM	FAMÍLIA
LURDES FORESTI DE ALMEIDA TOLEDO ³	X					Gymnotiformes	Gymnotidae, Sternopyoidae
						Characiformes	Characidae
						Siluriformes	Loricariidae Pimelodidae Callichthyidae
LYRIA MORI ³	X		X			Diptera	Drosophilidae
MARIA DA GRAÇA SALOMÃO ⁹			X			Squamata	Viperidae
MARIA DE FÁTIMA P. S. MACHADO ¹⁰		X	X			Cactales	Cactaceae
MARIA DE NAZARÉ K. GUIMARÃES ¹¹		X				Carnivora	Canidae
MARIA HELENA LARTIGAU PEREIRA FRANCO ¹²		X				Rodentia	Ctenomyidae Cricetidae
MARIA NAZARETH FERREIRA DA SILVA ¹²	X		X			Rodentia	Muridae Echimyidae
						Marsupialia	Didelphidae
						Primates	Callitrichidae
MARIO JORGE IGNACIO BRUM ¹³	X					Perciformes	Pomadasyidae Serranidae Blenniidae Cichlidae Pomacentridae
						Clupeiformes	Clupeidae
						Scorpaeniformes	Scorpaenidae
MARIO LUIZ TEIXEIRA DE MORAES ¹⁴		X		X		Sapindales	Anacardiaceae
MAURA HELENA MANFRIN ¹⁵		X				Diptera	Drosophilidae
OSMAR MALASPINA ¹⁶				X		Hymenoptera	Apidae
PEDRO MANOEL GALETTI JR ¹⁷	X		X			Characiformes	Anostomidae Curimatidae Prochilodontidae Characidae Gasteropelecidae
ROSANA TIDON-SKLORZ ¹⁸					X	Diptera	Drosophilidae
SÉRGIO FURTADO DOS REIS ¹⁹			X	X		Marsupialia	Didelphidae
						Rodentia	Echimyidae
SILVIA DAS GRAÇAS POMPOLO ²⁰	X					Hymenoptera	Apidae Sphecidae
VERA NISAKA SOLFERINI ²	X	X	X	X		Asterales	Asteraceae
						Orchidales	Orhidaceae

					Mesogastropoda	Littorinidae
					Arqueogastropoda	Patellidae
					Diptera	Tephritidae
WARWICK ESTEVAM KERR ²¹	X	X	X	X	X	Hymenoptera Apidae Meliponinae
						Diptera Drosophilidae
YATIYO YONENAGA-YASUDA ³	X				X	Squamata Gekkonidae Gymnophthalmidae Tropiduridae
						Rodentia Cricetidae Echimyidae

1. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Instituto de Biociências, Depto. Genética, Porto Alegre. RS.
2. Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP. Instituto de Biologia, Depto Genética e Evolução, Campinas. SP.
- 3 Universidade do Estado de São Paulo, USP. Instituto de Biociências, Depto. Biologia, São Paulo. SP.
4. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia, Depto. Genética, Rio de Janeiro. RJ.
5. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Coordenação Pesq. Biologia Aquática, Lab. Citogenética Animal, Manaus. AM.
6. Universidade Estadual Paulista. Inst. Biociências, Letras e Ciências Exatas, Depto. Zoologia, S. José Rio Preto. SP. *Citogenética*.
7. Universidade do Estado de São Paulo, USP. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Depto. Genética, Ribeirão Preto. SP.
8. Universidade Estadual Paulista. Instituto de Biociências, Depto. Genética, Botucatu. SP.
9. Instituto Butantan. Divisão Desenvolvimento Científico, Lab. Herpetologia, São Paulo. SP.
10. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Biológicas, Depto. Biologia Celular e Genética, Maringá. PR.
11. Universidade de Brasília. Instituto de Ciências Biológicas, Depto. Genética e Morfologia, Brasília. DF.
12. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Coordenação Pesquisas em Entomologia, Manaus. AM.
13. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia, Depto. de Zoologia, Rio de Janeiro. RJ.
14. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia - Campus Ilha Solteira, Depto. Fitotecnica, Economia e Sociologia Rural, Ilha Solteira. SP.
15. Universidade do Estado de São Paulo, USP. Faculdade Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Depto. Biologia, Ribeirão Preto. SP.
16. Universidade Estadual Paulista. Instituto de Biociências de Rio Claro, Depto. Biologia, Rio Claro. SP.

17. Universidade Federal de São Carlos. Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Depto. Genética e Evolução, São Carlos. SP.
18. Universidade de Brasília. Instituto de Ciências Biológicas, Depto. Genética e Morfologia, Brasília. DF.
19. Universidade Estadual de Campinas UNICAMP. Instituto de Biologia, Depto. Parasitologia, Campinas, SP.
20. Universidade Federal de Viçosa. Centro Ciências Biológicas e da Saúde, Depto. Biologia Geral, Viçosa. MG.
21. Univ. Federal de Uberlândia. Centro de Ciências Biológicas e Médicas, Depto. Genética e Bioquímica, Uberlândia. MG.

ANEXO 2: LISTA SELECIONADA DE REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS FORNECIDAS PELOS PESQUISADORES

- Aguilar, C.T. and Galetti Jr., P.M. 1997. Chromosomal studies in South Atlantic serranids (Pisces, Perciformes). *Cytobios*, **89**, 105-114.
- Albertani, F.B., Miyaki, C.Y, and Wajntal, A. 1997. Extra-pair paternity in the Golden Conure (*Guaruba guarouba*) (Psittaciformes) detected in captive. *Ararajuba*, **5**(2), 135-139.
- Almeida-Toledo, L. F. 1996. Molecular and Immunocytogenetics in Brazilian fishes. *Ciência e Cultura*, **48**(5/6), 377-382.
- Almeida-Toledo, L.F., Foresti, F. and Toledo, S. A. 1981. Constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions in the knifefish *Apteronotus albifrons* (Pisces, Apteronotidae). *Experientia*, **37**, 953-954.
- Almeida-Toledo, L.F., Foresti, F. and Toledo, S. A. 1984. Complex sex chromosome system in *Eigenmannia* sp (Pisces, Gymnotiformes). *Genetica*, **64**, 165-169.
- Almeida-Toledo, L.F., Foresti, F. and Toledo, S. A. 1985. Spontaneous triploidy and NOR activity in *Eigenmannia* sp (Pisces, Sternopygidae) from the Amazon Basin. *Genetica*, **66**, 85-88.
- Almeida-Toledo, L. F., Foresti, F., Daniel, M. F. Z. and Toledo, S. A. 1993. Nucleolar chromosome variants in *Sternopygus macrurus* (Pisces, Sternopygidae) from three Brazilian river basins. *Caryologia*, **46**, 53-61.
- Almeida-Toledo, L. F., Foresti, F., Ramos, S. M., Ormanezzi, R., Carolsfeld, V. J. S. and Toledo S. A. 1988. Estudos citogenéticos de híbridos entre fêmeas de Pacu (*Piaracatus mesopotamicus*) e machos de Tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Bol. Cepta*, **1**, 11-17.
- Almeida-Toledo, L. F., Stocker, A. J., Foresti, F. and Toledo-Filho, S. A. 1996. Fluorescence *in situ* hybridization with rDNA probes on chromosomes of two NOR phenotypes of species of *Eigenmannia*. *Chromosome Research*, **4**, 301-305.
- Andreato, A.A., Almeida-Toledo, L. F., Oliveira, C. and Toledo-Filho, S. A. 1994. Cytogenetic studies in Hypoptomatinae (Pisces, Siluriformes, Loricariidae). *Caryologia*, **47**(1), 27-37.
- Baimai, V., F.M. Sene and M.A.Q.R. Pereira. 1983. Heterochromatin and Karyotypic Differentiation of some Neotropical Cactus-Breeding Species of the *Drosophila repleta* Species Group. *Genetica*, **60**, 81-92.
- Bandouk, A.C. and S.F. dos Reis . 1995. Craniometric variation and subspecific differentiation in *Thrichomys operoides* in northeastern Brazil (Rodentia: Echimyidae). *Zeitschrift für Säugetierkunde*, **60**, 176-185.

- Bandouk, A.C. & S.F. dos Reis & B. Bordin. 1996. Cranial differentiation and evolution in *Thrichomys apereoides* in northeastern Brazil (Rodentia: Echimyidae). *Journal of Zoology*, **239**, 65-71.
- Barker, J.S.F., F.M. Sene, P.D. East and M.A.Q.R. Pereira. 1985. Allozyme and chromosomal polymorphism of *Drosophila buzzatii* in Brazil and Argentina. *Genetica*, **67**, 161-170.
- Bertollo, L.A.C., Moreira Filho, O. and Galetti., P.M. 1986. Cytogenetics and Taxonomy: Considerations based on chromosome studies of freshwater fish. *Journal Fish Neology*, **28**, 153-159.
- Bertolotto, C. E. V., Rodrigues, M. T., Skuk, G. and Yonenaga-Yassuda, Y. 1996. Comparative cytogenetic analysis with differential staining in three species of *Liolaemus* (Squamata, Tropiduridae). *Hereditas*, **125**, 257-264.
- Bitner-Mathé, B. C. and L. B. Klaczko. 1998. Variation and heritability of arisal morphology in a natural population of *Drosophila mediopunctata*. *Hereditas* (Sweden), **128**, 67-71
- Bitner-Mathé, B. C., A. A. Peixoto and L. B. Klaczko. 1995. Morphological variation in a natural population of *Drosophila mediopunctata*: altitudinal cline, temporal changes and influences of chromosome inversions. *Heredity*, **75**, 54-61.
- Brum, M. J. I. 1996. A Citogenética dos Peixes Neotropicais, In: "Documentos da I Jornada de Ictiologia do Rio de Janeiro". Museu Nacional da UFRJ, 9-16.
- Brum, M. J. I. 1996. Cytogenetic studies in Brazilian marine fishes. *Genetic Brazilian Journal*, **19**(3): 423-427.
- Brum, M. J. I., Correa, M. M. O., Oliveira, C. C. and Galetti Jr., P. M. 1995. Chromosome studies in Perciformes *Orthopristis ruber* (Haemulidae) and *Scartella cristata* (Blenniidae). *Caryologia*, **48**(4), 309-318.
- Brum, M.J., Oliveira, C.C. and Galetti Jr., P. M. 1995. Cytogenetic studies of two puffer species (Sphoeroids, Tetraodontidae) from de Rio de Janeiro coast, Brazil. *Cytologia* **60**, 369-374.
- Carvalho, A. B., S. C. Vaz and L. B. Klaczko. 1997. Polymorphism for Y-linked suppressors of sex-ratio in two natural populations of *Drosophila mediopunctata*. *Genetics*, **146**, 891-902
- Carvalho, A. B. and L. B. Klaczko. 1992. Age and sex-ratio expression in *Drosophila mediopunctata*. *Genetica* (Netherlands), **87**, 107-111.
- Carvalho, A. B. and L. B. Klaczko. 1993. Autosomal suppressors of sex-ratio in *Drosophila mediopunctata*. *Heredity*, **71**, 546-551.
- Carvalho, A. B. and L. B. Klaczko. 1994. Y-linked suppressors of the sex-ratio trait in *Drosophila mediopunctata*. *Heredity*, **73**, 573-579.
- Carvalho, A. B., M. C. Sampaio, F. R. Varandas and L. B. Klaczko. 1998. An experimental demonstration of Fisher's principle: evolution of sexual proportion by natural selection. *Genetics*, **148**, 719-731
- Carvalho, G. A., Kerr, W. E. and Nascimento, V. A. 1995. Sex determination in Bees. XXXIII. Decrease of XO heterolalleles in a finite population of *Melipona scutellaris* (Apidae, Meliponini). *Rev. Brasil. Genetica*, **18**(1), 13-16.
- Cestari, M.M. and Galetti Jr., P.M. 1992. Chromosome studies of *Serrasalmus spilopheura* (Characidae, Serrasalminae) from the Parana-Paraguay rivers: evolutionary and cytotoxic considerations. *Copeia*, 1992, 108-112.
- da Silva, M.N.F. and Patton, J.L. 1993. Amazonian Phylogeography: mtDNA sequence variation in arboreal echimyid rodents (Caviomorpha). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **2**(3), 243-255.
- da Silva, M. N. F. 1998. Four new species of spiny rats of the genus *Proechimys* (Rodentia: Echimyidae) from the western Amazon of Brazil. *Proceedings of the Biological Society of the Washington*. (no prelo).
- da Silva, M.N.F. and Patton, J.L. 1998. Molecular Phylogeography and the Evolution and Conservation of Amazonian Mammals. *Journal of Molecular Ecology*, 38pp. (no prelo).
- Diniz, N.M. and F. M. Sene. 1993. Linkage Disequilibrium between chromosomal inversions of *Drosophila mercatorum pararepleta* (Diptera, Drosophilidae). *Rev. Bras. Gen.*, **16**(4), 911-915.
- Diniz-Filho, J.A.F., Bueno, O.C., Chaud-Netto, J. and Malaspina, O. 1993. Heritability of the number of ovarioles in honeybee workers (*A. mellifera*) (Hymenoptera, Apidae). *Rev. Bras. Genet.*, **16**(4), 65-72.
- Diniz-Filho, J.A.F. and Malaspina, O. 1995. Evolution and population structure of africanized honey bees in Brazil: evidences from spatial analysis of morphometric data. *Evolution*, **49**(6), 1172-1179.
- Diniz-Filho, J.A.F. and Malaspina, O. 1996. Geographic variation of africanized honey bees in Brazil: multivariate morphometrics and racial admixture. *Rev. Brasil. Genet.*, **19**(2), 217-224.

- Esteban, M.R., Campos, M.C.C., Perondini, A.L.P. and Goday, C. 1997. Role of microtubules and microtubule organizing centers on meiotic chromosome elimination *Sciara ocellaris*. *Journal Cell Science*, **110**, 721-730.
- Fagundes, V. and Yonenaga-Yassuda, Y. 1996. The analysis of synaptonemal complex formation in *Trichomys apereoides* (Rodentia, Echimyidae) with detailed XY pairing. *Caryologia*, **49**(2), 183-192.
- Fagundes, V., Scalzi-Martin, J. M., Sims, K., Hozier, J. and Yonenaga-Yassuda, Y. 1997. Zoo-FISH of a microdissection DNA library and G-banding patterns reveal the homology between the Brazilian rodents *Akodon cursor* and *A. montensis*. *Cytogenetics and Cell Genetics*, **78**, 224-228.
- Fagundes, V., Vianna-Morgante, A. M. and Yonenaga-Yassuda, Y. 1997. Telomeric sequences localization and G-banding patterns in the identification of a polymorphic chromosomal rearrangement in the rodent *Akodon cursor* (2n = 14, 15 and 16). *Chromosome Research*, **5**, 228-232.
- Feldberg, E., Porto, J. I. R., Nakayama, C. M. and Bertollo, L. A. C. 1993. Karyotype evolution in Curimatidae from the Amazon region: II. Centric fission in the genus *Potamorhina*. *Genome*, **36**, 372-376.
- Fernandes-Matioli, F. M. C., Almeida-Toledo, L. F. and Toledo-Filho, S. A. 1997. Extensive nucleolus organizer region polymorphism in *Gymnotus carapo* (Gymnotoidei, Gymnotidae). *Cytogenetics and Cell Genetics*, **78**, 230-236.
- Figueiredo, V. L. C. and F.M. Sene. 1992. Chromosomal Variability in Brazilian Populations of *Drosophila buzzatii* (Diptera, Drosophilidae). *Rev. Bras. Biol.*, **52**(4), 600-608.
- Foresti, F., Oliveira, C., Almeida Toledo, L.F. and Galetti Jr., P. M. 1992. Improved technique for synaptonemal complex studies in fish. *International Workshop on Fish Cytogenetic Techniques (Concarnean, França)* **01**, 85-92.
- Foresti, F., Almeida-Toledo, L. F. and Toledo, S. A. 1981. polymorphic nature of nucleolus organizer regions in fishes. *Cytogen. Cell Genet.*, **31**, 137-144.
- Foresti, F., Almeida-Toledo, L. F. and Toledo, S. A. 1984. Chromosome studies in *Gymnotus carapo* and *Gymnotus sp* (Pisces, Gymnotidae). *Caryologia*, **37**, 141-146.
- Fowler, I. R. and Salomão, M. G. 1995. A new technique to distinguish between immature and adult snakes and males and females in six species of the Neotropical colubrid snakes *Philodryas*. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, **30**(3), 149-157.
- Galetti Jr., P. M., Cesar, A.C.G. and Venere, P.C. 1991. Heterochromatin and NORs variability in *Leporinus* fish (Anostomidae, Characiformes). *Caryologia*, **44**, 287-292.
- Galetti Jr., P.M., Bertollo, L. A. C. and Moreira Filho, O. 1984. Structure and variability of nucleolar organizing regions in Parodontidae fish. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, **26**(5), 564-568.
- Galetti Jr., P. M., Mestriner, C.A., Venere, P.C. and Foresti, F. 1991. Heterochromatin and karyotype reorganization in the family Anostomidae (Characiformes). *Cytogenetics and Cell Genetics*, **56**, 116-121.
- Galetti Jr., P.M. and Rasch, E.M. 1993. Chromosome studies in *Poecilia latipunctata* with NOR polymorphism as shown by silver nitrate and chromomycin A3 (Teleostei: Poeciliidae). *Ichthyological Exploration Freshwaters*, **IV**, 269-277.
- Galetti Jr., P.M. and Foresti, F. 1986. Evolution of the ZZ/ZW system in *Leporinus* (Pisces, Anostomidae). Role of constitutive heterochromatin. *Cytogenetics and Cell Genetics*, **43**, 43-46.
- Galetti Jr., P.M., Lima, N.R.W. and Venere, P.C. 1995. A monophyletic ZW sex chromosome system in *Leporinus* (Anostomidae, Characiformes). *Cytologia*, **60**, 375-382.
- Galetti Jr., P.M., Mestriner, C.A., Monaco, P.J. and Rasch, E.M. 1995. Post-zygotic modifications and intra and interindividual nucleolar organizing region variations in fish: report of a case involving *Leporinus friderici*. *Chromosome Research*, **3**, 285-290.
- Galetti Jr., P.M., Esteves, K.E., Lima, N.R.W., Mestriner, C.A., Cavallini, M. M., César, A. C. G. and Miyazawa, C.S. 1990. Aspectos comparativos da ictiofauna de duas lagoas marginais do rio Mogi-Guaçu (alto Paraná - Estação Ecológica do Itajaí, SP). *Congresso Brasileiro de Limnologia (São Paulo, SP)*. *Acta Limnologica Brasiliensia*, **III**, 865-885.
- Galetti Jr., P.M., Bertollo, L.C. and Moreira Filho, O. 1985. Karyotypic studies of some species of family Parodontidae (Pisces, Cypriniformes). *Cariologia*, **38**(1), 47-55.

- Galetti Jr., P.M., Silva, E.B. and Cerminaro, R.T. 1985. A multiple NOR system in the fish *Serrasalmus spilopleura* (Serrasalminae, Characidae). *Brazil. J. Genetics*, **8**(3), 479-484.
- Galetti Jr., P.M., Foresti, F., Bertollo, L.C. and Moreira Filho, O. 1981. Heteromorphic sex chromosomes in three species of the genus *Leporinus* (Pisces, Anostomidae). *Cytogenetics and Cell Genetics*, **29**, 138-142.
- Galetti Jr., P.M., Foresti, F., Bertollo, L.C. and Moreira Filho, O. 1981. Karyotypic similarity in three genera (*Leporinus*, *Leporellus* and *Schizodon*) of the family Anostomidae (Pisces, Teleostei) *Brazil. J. Genetics*, **4**(1), 11-15.
- Galetti Jr., P.M., Foresti, F., Bertollo, L.C. and Moreira Filho, O. 1984. Characterization of eight species of Anostomidae (Cypriniformes) fish on the basis of the nucleolar organizing regions. *Caryologia*, **37**(4), 401-406.
- Guimarães, I., Almeida-Toledo, L. F., Oliveira, C., Foresti, F. and Toledo-Filho, S. A. 1995. Cytogenetic studies in three species of Glandulocaudinae (Pisces, Characiformes, Characidae). *Rev. Brasil. Genet.*, **18** (2), 185-199.
- Haaf, T., Schmid, M., Steinflein, C. and Galetti Jr., P.M. 1993. Organization and molecular cytogenetics of a satellite DNA family from *Hoplias malabaricus* (Pisces, Erythrinidae). *Caryologia*, **46**, 115-125
- Haag, K. L. and Araújo, A. M. 1994. Inbreeding, Genetic Load and Morphometric Variation in natural populations of *Dryas ivlia* (Lepid., Nymphalidae). *Revista Brasileira de Genética*, **17**, 35-39.
- Haag, K. L., Araújo, A. M. and Zaha, A. 1993. Genetic Structure of natural populations of *Dryas ivlia* (Lepid., Nymph.) revealed by enzyme polymorphism and mtDNA RFLPs. *Biochemical Genetics*, **31**, 449-460.
- Haag, K. L., Gottstein, B., Araújo, A. M. and Zaha, A. 1997. Identificação e caracterização de linhagens do parasito *Echinococcus granulosus* através de PCR-SSCP seguido de sequenciamento. *Revista Brasileira de Genética*, **20**(3), 336.
- Haag, K. L., Zaha, A., Araújo, A. M. and Gottstein, B. 1997. Reduced genetic variability within coding and non-coding regions of the *Echinococcus multilocularis* genome. *Parasitology*, **115**, 521-529.
- Infante-Vargas, M. E. 1994. Análise da variabilidade genética do DNA mitocondrial via RFLP de populações de *Cochiomya hominivorax*. Tese de Mestrado. Biblioteca do Instituto de Biologia. UNICAMP. Campinas SP.
- Jordana, J., Piedrafita, J. and Sanches, A. 1991. Variabilidad Genética en diez razas caninas españolas. *Archivos de Zootecnia*, **40**, 115-129.
- Jordana, J., Piedrafita, J. and Sanchez, A. 1991. Variabilidad Y relaciones geneticas de cinco poblaciones de la raza canina "Gos D artura". *Investigacion Agraria*, **6**, 211-223.
- Kasahara, S., Pellegrino, K. C. M., Rodrigues, M. T. and Yonenaga-Yassuda, Y. 1996. Comparative cytogenetic studies of eleven species of the *Tropidurus torquatus* group (Sauria, Tropiduridae) with banding patterns. *Hereditas*, **125**, 37-46.
- Kerr, W. E. and Cunha, R. A. 1990. Sex determination in bees. XXVI. Masculinism of workers in the Apidae. *Rev. Bras. Gen.*, **13**(3), 479-489.
- Kerr, W. E., Carvalho, G. A. and Nascimento, V. A. 1996. Uruçu: biologia e manejo. Fundação Acangaú. Belo Horizonte, 144 pp.
- Kerr, W. E., Monteiro, S. G. and Kerr, H. A. S. 1988. Sex determination in bees. XXV. Adaptive value of the sex gene in its origin. *Rev. Bras. Gen.*, **11**(2), 469-473.
- Kerr, W.E. 1997. Sex determination in honey bees (Apinae and Meliponinae) and its consequences. *Brazilian Journal of Genetics*, **20**(4), 601-612.
- Klaczko, L. B. and B. C. Bitner-Mathé. 1990. On the edge of a wing. *Nature*, **346**, 321.
- Klaczko, L. B. Population Genetics of *Drosophila mediopunctata*. 1995. In: Levine, L. (Ed.) *Genetics of Natural Populations: the Continuing Importance of Theodosius Dobzhansky*. Columbia University Press. New York.
- Klaczko, L. B., P. A. Otto and A. A. Peixoto. 1990. Allele frequency estimates when only heterozygotes can be recognized: method of estimation and application in the case of chromosomal inversion polymorphisms in *Drosophila*. *Heredity*, **64**, 263-270.

- Klautau, M., Solé-Cava, A. M. and Borojevic, R. 1994. Biochemical systematics of sibling species of *Clathrina* (Porifera, Calcarea). *Biochemical Systematics and Ecology*, **22**, 367-375.
- Klautau-Guimarães, M. N., Moreira, J. R., Pilla, E. J. S. e Contel, E. P. B. 1997. Variabilidade Genética do lobo-guará em sua área de maior pressão antrópica. *Revista Brasileira de Genética*, **20**(3), 334.
- Koehler, M.R., Dehm, D., Guttenbach, M., Nanda, I., Molina, W.F., Galetti Jr., P.M. and Schmid, M. 1997. Cytogenetics of the genus *Leporinus* (Pisces, Anostomidae). 1. Karyotype analysis, heterochromatic distribution and sex chromosomes. *Chromosome Research*, **5**, 12-22.
- Kuhn, G.C.S., A. Ruiz, M.A.R. Alves and F. M. Sene. 1996. The metaphase and polytene chromosomes of *Drosophila seriema* (repleta group; mulleri subgroup). *Rev. Bras. Gen.*, **19**(2), 365-372.
- Lara, M.C., Patton, J.L. and da Silva, M. N. F. 1996. The simultaneous diversification of echimyid rodents (Caviomorpha): a star-phylogeny based on complete cytochrome b sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **5**(2), 403-413.
- Lobo, J. A. and Kerr, W. E. 1993. Estimation of the number of matings in *Apis mellifera*; extensions of the model and comparison of different estimates. *Ethology Ecology & Evolution*, **5**, 337-345.
- Lucca, E. J. and Rocha, G. T. 1992. Citogenética de Aves. *Bol. Mus. Para. Emilio Goeldi, serie Zool.*, **8**(1), 33-68.
- Machado, M.F.P.S., Prioli, A. J. and Mangolin, C.A. 1993. Malate Dehydrogenase (MDH: EC 1.1.1.37) isozymes in Tissues and Callus Cultures of *Cereus peruvianus* (Cactaceae). *Biochemical Genetics*, **31**, 167-172.
- Maistro, E. L., Foresti, F., Oliveira, C. and Almeida-Toledo, L. F. 1992. Occurrence of macro B chromosomes in *Astyanax scabripinnis paranae* (Pisces, Characiformes). *Genetica*, **87**, 101-106.
- Malaspina, O. 1992. Peso da operária e influência do genótipo paterno na transmissão de caracteres em *Apis mellifera*. *Naturalia*, 86-89.
- Malaspina, O., Stort, A.C. and Bueno, O. C. 1989. Análise de caracteres morfológicos e comportamentais em abelhas africanizadas, caucasianas e em descendentes dos seus cruzamentos. *Rev. Bras. Zool.*, **6**(1), 63-73.
- Mangolin, C. A. and Machado, M. F. P. S. 1997. Isozyme extraction from shoot tissue of *Cereus peruvianus* (Cactaceae) for electrophoretic analysis. *Revista Brasileira de Genética*, **20**, 327.
- Mangolin, C. A., Prioli, A. J. and Machado, M. F. P. S. 1997. Isozyme variability in plants regenerated from calli of *Cereus peruvianus* (Cactaceae). *Biochemical Genetics*, **35**, 189-204.
- Mangolin, C.A., Prioli, A. J. and Machado, M. F. P. S. 1994. Isozyme Patterns in Callus Cultures and in Plants regenerated from calli of *Cereus peruvianus* (Cactaceae). *Biochemical Genetics*, **32**, 237-247.
- Mangolin, C.A., Prioli, A. J. and Machado, M. F. P.S. 1994. Alcohol Dehydrogenase (EC 1.1.1.1.) Isozymes as Markers at 2,4-Dichloro-Phenoxyacetic Acid X Kinetin Combinations in Callus Cultures of *Cereus peruvianus*. *Biochemical Genetics*, **32**, 191-199.
- Mattos, A., Solé-Cava, A. M., DeCarli, G. and Benchimol, M. 1997. Fine structure and isozymic characterization of *Tritrichomonas suis*. *Journal of Parasitology*, **83**, 290-295.
- Melo, A., Malaspina, O. and Diniz-Filho, J.A.F. 1997. Heritability of sings characters in africanized honey bees. *J. Venom. Amim. Toxins*, **3**(2), 274-279.
- Mestriner, C.A., Bertolo, L.A.C. and Galetti Jr., P.M. 1995. Chromosome banding and synaptonemal complexes in *Leporinus lacutris* (Pisces, Anostomidae): analysis of a sex system. *Chromosome Research*, **3**, 440-443.
- Miyaki, C.Y., Duarte, M.B., Caparroz, R., Nunes, A.V.L. and Wajntal, A. 1997. Sex identification of South American Parrots (Psittacidae, Aves) using the Human minisatellite probe 33.15. *The Auk*, **114**(3), 516-520.

- Miyaki, C.Y., Hanotte, O., Wajntal, A. and Burke, T. 1995. DNA fingerprinting in the endangered parrot *Aratinga guarouba* and other *Aratinga* species. *Revista Brasileira de Genética*, **18**(3), 405-411.
- Miyaki, C.Y., Pereira, S.L. and Wajntal, A. 1997. DNA fingerprinting applied to parrot captive breeding programs. *Ararajuba*, **5**(2), 127-133.
- Miyaki, C.Y., Wajntal, A. and Burke, T. 1992. Sex typing of *Aratinga* parrots using the human minisatellite probe 33.15. *Nucleic Acids Research*, **20**(19), 5235-5236.
- Monteiro, F. A., Solé-Cava, A. M. and Thorpe, J. P. 1997. Extensive genetic divergence between populations of the common intertidal sea anemone *Actinia equina* from Britain, the Mediterranean and the Cape Verde Islands. *Marine Biology*, **129**, 425-433.
- Monteiro, S.G., R. Almeida, N.M. Diniz and F.M. Sene. 1994. Identification of the Karyotype of *Drosophila zottii*: Metaphase Chromosomes. *Rev. Bras. Gen.*, **17**(3), 339-340.
- Monteiro, S.G., R. Tidon-Sklorz and F.M. Sene. Genetic basis of morphological differences between the aedeagi of *Drosophila seriema* and *D. koepferae* (Diptera, Drosophilidae). *Heredity*. (no prelo).
- Moraes, M. L. T. 1993. A técnica da eletroforese e a caracterização das isoenzimas: In: Kageyama, P.Y., Reis, M. S. e Gandara, F. B. (Coords.) *Estimadores de Variação Genética e taxa de cruzamento em populações de espécies arbóreas*. Departamento de Ciências Florestais/ESALQ/USP, 9-31, Piracicaba, SP.
- Moraes, M. L. T., Andrade, J. A. C., Kageyama, P. Y. and Siqueira, A. C. M. F. 1995. Uso do coeficiente de caminhamento em populações de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.). *Revista Brasileira de Genética*, **18**(3), 270.
- Moraes, M. L. T., Andrade, J. A. C. and Kageyama, P. Y. 1996. Variabilidade genética entre populações de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.) em consórcio com candiúba (*Trema micrantha* L.). *Revista Brasileira de Genética*, **19**(3), 198.
- Moraes, M. L. T., Kageyama, P. Y., Siqueira, A. C. M. F., Kano, N. K. e Cambuim, J. 1992. Variação genética em duas populações de aroeira (*Astronium urundeuva* Fr. All - Engl. Anacardiaceae). *Revista do Instituto Florestal, São Paulo*, **4**, 1241-45.
- Moraes, M. L. T., Moraes, S. M. B. e Kageyama, P.Y. 1997. Estrutura genética de duas populações naturais de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.): em mata primária e pastagem abandonada. *Revista Brasileira de Genética*, **20**(3), 329.
- Moreira Fillho, O., Bertollo, L.A.C. and Galetti Jr., P.M. 1980. Evidences for a multiple sex chromosomes system with female heterogamety in *Apareiodon affinis* (Pices, Parodontidae). *Caryologia*, **33**(1), 83-91.
- Moreira-Filho, O., Bertollo, L.A.C. and Galetti Jr., P.M. 1993. Distribution of sex chromosome mechanisms in neotropical fish and description of a ZZ/ZW system in *Parodon hilarii* (Parodontidae). *Caryologia*, **46**, 115-125.
- Mori, L. e Vilela, C. R. 1997. Uma segunda espécie de *Drosophila* do subgrupo *repleta* em guano de morcego hematófago. *Revista Brasileira de Genética*, **20**(3), 304.
- Mori, L., Dessen, E.M., Perondini, A.L.P. 1979. A gene that modifies the sex-ratio in a bisexual strain of *Sciara ocellaris*. *Heredity*, **42**, 353-358.
- Mori, L. and Perondini, A.L.P. 1980. Errors in the elimination of X- chromosomes in *Sciara ocellaris*. *Genetics*, **94**, 663-673.
- Morielle, E. and Varella-Garcia, M. 1998. Variability of nucleolar organizer regions in Phyllostomid bats. *Revista Brasileira de Genética*, **11**, 853-871.
- Morielle, E., Goloni-Bertollo, E. M., Varella-Garcia, M. and Taddei, V. A. 1988. A chromosome banding study of *Eumops glaucinus* (Chiroptera, Molossidae). *Revista Brasileira de Genética*, **11**, 791-795.
- Morielle-Versute, E. and Varella-Garcia, M. 1994. Identification of common fragile sites in chromosomes of 2 species of bat. *Journal Genetics Selection Evolution*, **26**, 81-89.
- Morielle-Versute, E., Varella-Garcia, A. M. and Taddei, V. A. 1996. Karyotypic patterns of seven species of molossid bats (Molossidae, Chiroptera). *Cytogenetics Cell Genetics*, **72**, 26-33.

- Muricy, G., Solé-Cava, A. M., Thorpe, J. P. and Boury-Esnault, N. 1996. Genetic evidence for extensive cryptic speciation in the sponge *Plakina trilopha* (Porifera: Demospongiae: Homoscleromorpha) from the Western Mediterranean. *Marine Ecology, Progress Series*, **138**, 181-187.
- Nascimento, J. C. and Oliveira, A. K. 1997. Ontogenetic development of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae): isoenzyme patterns of isocitrate and alcohol dehydrogenases. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **118**(3), 847-854.
- Nascimento, J. C. and Oliveira, A. K. 1997. The isozymatic pattern of alkaline phosphatase during cytogenetic development of *Anastrepha fraterculus* (Diptera, Ephritidae). *Brazilian Journal of Genetics*, **20**(2), 197-201.
- Oliveira, C., Almeida-Toledo, L. A., Mori, L. and Toledo, S. A. 1993. Cytogenetic and DNA content studies on armored catfishes of the genus *Corydoras* (Pisces, Siluriformes, Callichthyidae) from the southeast coast of Brazil. *Rev. Brasil. Genet.*, **16**(3), 617-629.
- Oliveira, C., Almeida-Toledo, L. F., Britski, H. A., Foresti, F. and Toledo-Filho, S. A. 1988. Chromosome formulae of Neotropical freshwater fishes. *Revista Brasileira de Genética*, **11**(3), 577-624.
- Oliveira, C., Almeida-Toledo, L. F., Mori, L. and Toledo Filho, S. A. 1993. Cytogenetic and DNA content in six genera of the family Callichthyidae (Pisces, Siluriformes). *Caryologia*, **46**(2-3), 171-188.
- Oliveira, R. C., Vasconcelos, S. M., Campos, A. P. S., Kerr, W. E., Goulart-Filho, L. R. and Roubick, D. 1997. Polimorfismo por marcadores RAPDem *Tetragonisca angustula* Latreille (1811) (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). *Brazilian Journal of Genetics*, **20**(3), 337.
- Orti, G., Petry, P., Porto, J. I. R., Jegu, M. and Meyer, A. 1996. Patterns of nucleotide change in mitochondrial Ribosomal RNA genes and the phylogeny of Piranhas. *Journal of Molecular Evolution*, **42**, 169-182.
- Patton, J.L., S.F. dos Reis and M.N.F. da Silva. 1996. Phylogenetic relationships in didelphid marsupials: Perspectives from mitochondrial DNA sequences. *Journal of Mammalian Evolution*, **3**, 3-29.
- Patton, J. L., da Silva, M.N.F. and Malcolm, J.R. 1994. Gene genealogy and differentiation among arboreal spiny rats (Rodentia: Echimyidae) of the Amazon basin: A test of the riverine barrier hypothesis. *Evolution*, **48**(4), 1314-1323.
- Patton, J.L., da Silva, M.N.F., Laura, M.C. and Mustrangi, M.A. 1997. Diversity, differentiation and the historical biogeography of non-volant small mammals of the Neotropical forests. In: W.F. Laurence, R.O. Bierregaard, Jr. and C. Moritz (Eds.) *Tropical Forest Remnants; Ecology management and Conservation of Fragmented Communities*. University of the Chicago Press, Chicago, IL., pp. 455-465.
- Patton, J.L., da Silva, M.N.F. and Malcolm, J.R. 1996. Hierarchical Genetic Structure and Gene Flow in Three Sympatric Species of Amazonian Rodents. *Journal of Molecular Ecology*, **5**, 229-238.
- Patton, J.L., dos Reis, S.F. and da Silva, M.N.F. 1996. Relationships among didelphid marsupials based on sequence variation in the mitochondrial cytochrome b gene. *Journal of Mammalian Evolution*, **3**(1), 3-29.
- Peixoto, A. A. and L. B. Klaczko. 1991. Linkage disequilibrium analysis of chromosomal inversion polymorphism in *Drosophila*. *Genetics*, **129**, 773-777.
- Pellegrino, K. C. M., Kasahara, S., Rodrigues, M. T. and Yonenaga-Yassuda, Y. 1997. Pericentric inversion events in karyotypic distinction of Brazilian lizards of genus *Phyllotopus* (Squamata, Gekkonidae) detected by chromosomal banding patterns. *Hereditas*, 127.
- Pereira, S.L., Miyaki, C.Y. and Wajntal, A. 1996. DNA fingerprinting in the rare black-fronted Piping guan *Pipile jacutinga* (Cracidae, Aves). *Revista Brasileira de Biologia*, **56**(4), 783-791.
- Peres, C.A., da Silva, M.N.F. and Patton, J.L. 1996. Riverine barriers and gene flow in Amazonian saddle-back tamarim monkeys. *Folia Primatologica*, **67**, 113-124

- Perondini, A.L.P. 1979. On the transmission of the asymmetric polytene chromosome bands in *Sciara ocellaris*. *Caryologia*, **32**, 365-372.
- Perondini, A.L.P. 1998. Elimination of X-chromosome and the problem of sex determination in *Sciara ocellaris*. In: Chatterjee, R.N. and Sanches, L. (Eds.) *Genome analysis in eukaryotes: developmental and evolutionary aspects*. Narosa Publ. House, New Delhi. pp. 148-165.
- Perondini, A.L.P. and Dessen, E.M. 1998. The asymmetric bands of the polytene chromosomes of *Sciara ocellaris* (Diptera; Sciaridae). *Brazilian J. Genetics*, **11**, 13-26.
- Perondini, A.L.P., Otto, P.A., Templeton, A. and Rogatko, A. 1983. Evidence for assortative mating systems related to the polytene chromosomes band polymorphism in *Sciara ocellaris*. *Journal Heredity*, **74**, 283-288.
- Perondini, A.L.P. and Otto, P.A. 1991. Evidences for selective differences in single polytene chromosome band polymorphism in *Sciara ocellaris*. *Journal Heredity*, **82**, 275-281.
- Pessôa, L.M. and S.F. dos Reis. 1994. Systematic implications of craniometric variation in *Proechimys iheringi* Thomas (Rodentia: Echimyidae). *Zoologischer Anzeiger*, **232**, 181-200.
- Pessôa, L.M., S.F. dos Reis and M.F. Pessôa. 1996. Bacular variation and systematics of *Proechimys iheringi*, subgenus *Trinomys* (Rodentia: Echimyidae). *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, **31**, 129-132.
- Pires, A.O. e Vilela, C. R. 1997. Cariotipos de espécies de *Drosophila* do grupo *Tripunctata* em uma mata semi-decídua. *Revista Brasileira de Genética*, **20**(3), 306.
- Pompolo, S. G. 1992. Estudos Citogenéticos em Meliponinae. In: Cruz-Landim, C. (Org.) *Anais do Encontro Brasileiro de Biologia de Abelhas e Outros Insetos Sociais*, 62-66.
- Pompolo, S. G. 1994. Análise dos cariótipos de 19 Gêneros de Abelhas da Subfamília Meliponinae. *Anais do I Encontro sobre Abelhas*, 1, 143-146.
- Pompolo, S. G. and Campos, L. A. O. 1995. Karyotypes of two species of stingless bees, *Leurotrigona muelleri* and *Leurotrigona pusilla* (Hymenoptera, Meliponinae). *Brazilian Journal of Genetics*, **18**, 181-184.
- Porto, J. I. R. and Feldberg, E. 1992. Comparative cytogenetic study of the armored catfishes of the genus *Hoplosternum* (Callichthyidae). *Rev. Brasil. Genet.*, **15**(2), 359-367.
- Porto, J. I. R., Feldberg, E., Nakayama, C. M. and Falcão, J. N. 1992. A checklist of chromosome numbers and karyotypes of Amazonian freshwater fishes. *Rev. Hydrobiol. Trop.*, **25**(4), 287-299.
- Prioli, A. J., Mangolin, C. A., Oliveira, S. A. and Machado, M. F. P. S. 1995. Isozymes as Markers of The Effect of Growth Regulator Combinations on callus tissues from long-term cultures of *Cereus peruvianus*. *Brazilian Journal of Genetics*, **18**, 105-109.
- Randi, E., Lucchini, V. and Francisci, F. 1993. Allozyme variability in the itacian wolf (*Canis lupus*) population. *Heredity*, **71**, 516-522.
- Reis, S.F. and L.M. Pessôa. 1995. *Proechimys albipinus minor*, a new subspecies of spiny rat from the state of Bahia, northeastern Brazil (Rodentia: Echimyidae). *Zeitschrift für Säugetierkunde*, **60**, 237-242.
- Reis, E. A. and Mori, L. 1994. DNA mitocondrial e ribossômico de espécies de *Drosophila* dos subgrupos *mercatorum* e *repleta*. *Revista Brasileira de Genética*, **17**(3), 304.
- Reis, E. A. and Mori, L. 1995. Análise molecular de 9 espécies de *Drosophila* dos subgrupos *mercatorum* e *repleta*. *Revista Brasileira de Genética*, **18**(3), 280.
- Resende, A. G., Oliveira-Collet, S.A., Vidigal, P. S. and Machado, M. F. P.S. 1997. Isoenzimas em Variedades de *Manihot esculenta* Crantz cultivadas nas regiões Noroeste e Oeste do Estado do Paraná. *Revista Brasileira de Genética*, **20**, 327.
- Russo, C. A. M. and Solé-Cava, A. M. 1991. Genetic variation and differentiation between populations of a tropical sea-anemone (*Bunodosoma caissarum* Correa). *Revista de Biologia Tropical*, **39**, 41-46.

- Russo, C. A. M., Solé-Cava, A. M. and Thorpe, J. P. 1994. Population structure and genetic variation in two tropical sea anemones (Cnidaria, Actiniidae) with differing reproductive strategies. *Marine Biology*, **119**, 267-276.
- Salomão, M G. 1997. Marcadores moleculares e seu papel nos estudos de sistemática, evolução, história natural e conservação. *Revista Universidade Guarulhos, Série Pós-Graduação II* (1), 29-36.
- Salomão, M.G., Puerto, G., Furtado, M. F. D. and Sawaya, P. 1990. *Philodryas olfersii*: Morphological, histochemical studies of Duvernoy's glands. Venom extraction. *Mem. Inst. Butantan*, **52**, 69.
- Selivon, D. and Morgante, J. S. 1997. Reproductive isolation between *Anastrepha bistrigata* and *A. striata* (Diptera, Tephritidae). *Brazilian Journal of Genetics*, **20**, 583-585.
- Selivon, D. and Perondini, A. L. P. 1997. Evaluation of Techniques for C and ASG banding of the mitotic chromosomes of *Anastrepha* species (Diptera: Tephritidae). *Brazilian Journal of Genetics*, **20**, 651-653.
- Selivon, D. and Perondini, A. L. P. 1997. Extrusion of yolk masses by hybrid embryos of two cryptic species of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). *Brazilian Journal of Genetics*, **20**, 253-256.
- Selivon, D., Morgante, J. S. and Perondini, A. L. P. 1997. Egg size, yolk masses extrusion and hatching behavior in two cryptic species of *Anastrepha fraterculus*: (Diptera, Tephritidae). *Brazilian Journal of Genetics*, **20**, 587-594.
- Selivon, D., Morgante, J. S., Ribeiro, A. F. and Perondini, A. L.P. 1996. Extrusion of masses of yolk during embryony development of the fruit fly *Anastrepha fraterculus*. *Invertebrate Reproduction and Development*, **29**, 1-7.
- Sene, F.M. 1986. Geographic and Ecological Pattern of Chromosome Polymorphism in *Drosophila mercatorum pararepleta*. *Rev. Bras. Gen.*, **9**(4), 573-591.
- Sene, F.M. and T.H.F. Santos. 1988. Chromosomal Variability in *Drosophila paranaensis* from Brazil, South America. *Evolución Biológica*, **2**, 261-271.
- Sene, F.M., J.M. Amabis, H.L. Carson and T.H.F.S. Cyrino. 1981. Chromosome polymorphism in *Drosophila mercatorum pararepleta* in South America. *Rev. Bras. Genet.*, **4**, 1-10.
- Sene, F.M., M.A.Q.R. Pereira and C.R. Vilela. 1982. Evolutionary aspects of cactus Breeding *Drosophila* Species in South America. *In*: J.S.F. Barker and W.T. Starmer (Eds.) *Ecological Genetics and Evolution*. Academic Press, Sydney, Australia, pp. 97-106.
- Sene, F.M., M.A.Q.R. PEREIRA and C. R. Vilela. 1988. Contrasting Patterns of Differentiation Inferred from Traditional Genetic Markers in the Process of Speciation. *Pacific Science*, **42** (1-2), 81-88.
- Shoji, A. H. and Vilela, C. R. 1997. Biologia de *Drosophila eleonora* proveniente de duas cavernas brasileiras. *Revista Brasileira de Genética*, **20**(3), 306.
- Silva, A.F.G. and F.M. Sene. 1991. Morphological Geographic Variability in *Drosophila serido* (Diptera, Drosophilidae). *Rev Bras. Ent.*, **35**(2), 455-468.
- Silva, E. P. and Solé-Cava, A. M. 1994. Genetic variation and population structure in the tropical marine bivalve *Anomalocardia brasiliiana* (GMELIN, 1791) (Veneridae). *In*: A. Beaumont (Ed.) *Genetics and Evolution of Aquatic Organisms*. Chapman and Hall. Londres, pp. 159-168
- Silva, M. J. J. and Yonenaga-Yassuda, Y. 1997. New karyotypes of two related species of *Oligoryzomys* genus (Cricetidae, Rodentia) involving centric fusion with loss of NORs and distribution of telomeric (TTAGGG)_n sequences. *Hereditas*, **127**(3), 217-229.
- Solé-Cava, A. M. and Thorpe, J. P. 1994. Evolutionary genetics of Marine Sponges. *In*: R. W. M. Van Soest, T. M. G. Vakempen and J. C. Braekman. (Eds.) *Sponges in Time and Space*. Balkema, Amsterdam, pp.55-63.
- Solé-Cava, A. M., Russo, C. A. M., Araújo, M. E and Thorpe, J. P. 1994. Cladistic and phenetic analysis of allozyme data for nine species of anemones of the family Actiniidae (Cnidaria: Anthozoa). *Biological Journal of the Linnean Society*, **52**, 225-239.

- Solé-Cava, A. M., Thorpe, J. P. and Todd, C. D. 1994. High genetic similarity between geographically distant populations in a sea anemone species with low dispersal capabilities. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **74**, 895-902.
- Solé-Cava, A. M., Thorpe, J. P. and Manconi, R. 1991. A new Mediterranean species of *Axinella* detected by biochemical genetic methods. In: J. Reitner and H. Keupp (Eds.) *Fossil and Recent Sponges*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 313-321.
- Stort, A.C., Malaspina, O. and Neves, L.H.M. 1992. Genética do numero de estruturas sensoriais antenares e relação entre comportamento de coleta de alimento e a produção das coméias. *Naturalia*, 148-152.
- Thorpe, J. P. and Solé-Cava, A. M. 1994. The use of electrophoresis in invertebrate systematics. *Zoologica Scripta*, **23**, 3-18.
- Tidon-Sklorz, R., C.R. Vilela; F.M. Sene and M.A.Q.R. Pereira. 1994. The genus *Drosophila* in the Serra do Cipó. *Revta. Bras. Ent.*, **38**(3/4), 627-637.
- Tidon-Sklorz, R. and Sene, F.M. 1992. Vertical and temporal distribution of *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae) species in a wooded area in the state of São Paulo. *Brazil. Rev. Bras. Biol.*, **52**(2), 311-317.
- Tidon-Sklorz, R. and F.M. Sene. 1995. *Drosophila seriema*: A new member of the *Drosophila serido* (Diptera, Drosophilidae) superspecies taxon. *An. Entomol. Soc. Am.*, **88**(1), 139-142.
- Tidon-Sklorz, R. and F.M. Sene. 1995. Evolution of the *buzzatii* cluster (*Drosophila repleta* species group) in the Northeastern South America. *Evolucion Biologica*, **9**, 71-85.
- Tidon-Sklorz, R. and F.M. Sene. 1995. Fauna of *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae) in the "Cadeia do Espinhaço", states of Minas Gerais and Bahia, Brazil: biogeographical and ecological aspects. *Iheringia, Sér.Zool.*, **78**, 85-94.
- Torquato, E. F. B., Prioli, A. J. and Machado, M. F. P. S. 1995. Differential Alcohol Dehydrogenase Isozyme expression in long-term callus tissue cultures of *Cereus peruvianus*. *Biochemical Genetics*, **33**, 389-399.
- Tosi, D. and F.M. Sene. 1989. Further Studies on Chromosomal Variability in *Drosophila serido* (Diptera, Drosophilidae). *Rev. Bras. Gen.*, **1**(4), 729-746.
- Varella-Garcia, A. M., Morielle-Versute, E. and Taddei, V. A. 1989. A survey of cytogenetic data on Brazilian bats. *Revista Brasileira de Genética*, **12**, 761-793.
- Varella-Garcia, M. and Taddei, V. A. 1989. Citogenética de quirópteros: métodos e aplicações. *Revista Brasileira de Zoologia*, **6**, 297-323.
- Vasconcelos, S. M., Oliveira, R. C., Soraggi, A. P.C., Goulart Filho, L R e Kerr, W. E. 1997. Divergência genética com marcadores RAPD em população de *Melipona rufiventris*. (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). *Brazilian Journal of Genetics*, **20**(3), 303.
- Venere, P.C. and Galetti Jr., P.M. 1995. Multiple longitudinal bands in fish chromossomes: Comparison of structural G-banding and replication R bands among curimatids. *Cytobios*, **84**, 71-78.
- Venere, P.C. and Galetti Jr., P.M. 1985. Natural triploidy and chromosome B in the fish *Curimata modesta* (Curimatidae, Characiformes). *Brazil. J. Genetics*, **8**(4), 681-687.
- Wasko, A.P., Venere, P.C. and Galetti Jr., P.M. 1996. Chromosome divergences between two sympatric characid fishes of the genus *Bryconamericus*. *Brazil. J. Genetics*, **19**(2), 225-230.
- Wuster, W., Thrope, R. S., Puerto, G. and BBBSP (Butantan-British Bothrops Systematics Project: the main authors and M F. D. Furtado, S. A. Hoge, M. G. Salomão, R D. G. Theakston and D. A. Warrell). 1996. Systematics of the *Bothrops atrox* complex (Reptilia: Serpentes: Viperidae) in Brazil: A multivariate analysis. *Herpetologica*, **52**, 263-271.
- Yonenaga-Yassuda, Y., Mori, L., Chu, T. H. and Rodrigues, M. T. 1996. Chromossomal banding patterns in the eyelid-less microteiid radiation: Procellosaurinus and Vanzosaura (Squamata, Gymnophthalmidae). *Cytogenetics and Cell Genetics*, **74**, 203-210.

ANEXO 3: GLOSSÁRIO

Alopoliploidia

Tipo de **poliploidia** em que os conjuntos cromossômicos são originados de espécies diferentes, a partir de cruzamentos interespecíficos.

Análise discriminante

A análise discriminante é um método estatístico usado para determinar que variáveis melhor discriminam dois ou mais grupos (é utilizada tanto para teste de hipóteses quanto como método exploratório).

Análise de componentes principais (PCA)

Método de análise estatística multivariada que objetiva encontrar índices denominados componentes principais, que são não correlacionados entre si, mas expressam a estrutura de variância dos dados originais de modo mais conciso, visando facilitar sua análise.

Autopoliploidia

Tipo de **poliploidia** em que todos os conjuntos de cromossomos da célula são da mesma espécie.

Banda G

Técnica de bandeamento cromossômico que utiliza o corante Giemsa, produzindo um padrão de bandas (escuras e claras) específico de cada cromossomo.

Bandeamento

Conjunto de métodos de coloração dos cromossomos utilizados nos estudos de citogenética, que empregam corantes específicos para obtenção de um padrão de bandas (faixas) claras e escuras típico para cada cromossomo de um cariótipo, possibilitando a identificação de pequenas variações na estrutura dos mesmos.

Cariótipo

É a caracterização do conjunto de cromossomos de indivíduo ou espécie, onde se evidencia o seu número, forma, tamanho e posição do centrômero. A representação do cariótipo, denominada cariograma, pode ser feita a partir de uma fotografia ou desenho detalhado de uma célula em metáfase, em que todos os cromossomos estão bem corados e individualizados.

Caracteres Quantitativos

Caracteres que são afetados por múltiplos fatores genéticos e ambientais. São classificados, de acordo com o modo como são medidos, em três tipos: métricos: medidos em uma escala contínua, não interrompida; merísticos: medidos por contagem em números inteiros; de limiar: pela sua presença ou ausência em um organismo.

Centrômero

Uma região especializada dos cromossomos que é vista como uma constrição; ponto onde as cromátides irmãs estão unidas nos cromossomos mitóticos. Contém uma estrutura denominada cinetocoro, onde as fibras do fuso se ligam durante a divisão celular. Com base na posição do centrômero, os cromossomos são classificados em: metacêntricos (região mediana), submetacêntrico (próximo da região mediana), acrocêntrico (próximo da extremidade) e telocêntrico (na extremidade).

Cline (clina)

Uma mudança gradual na frequência alélica ou na média de uma caráter, ao longo de um transecto feito dentro da área de distribuição de uma população ou espécie.

Cloroplasto

Uma organela citoplasmática especializada na fotossíntese, presente em plantas. Estas organelas têm DNA próprio (cpDNA) que codifica genes de proteínas, tRNA e rRNA.

Cromátide

Denominação de cada uma das duas cópias dos cromossomos replicados que aparecem unidas pelo centrômero (cromátides irmãs), formadas durante as divisões celulares: mitose e meiose.

Cromômero

Série de grânulos concentrados de cromatina que são visualizados ao longo dos cromossomos, durante as primeiras fase de divisão celular.

Cromossomo

Estrutura auto-replicante da célula, constituída basicamente por DNA e proteínas, que carrega a informação genética disposta numa sequência linear de nucleotídeos. As diferentes espécies de organismos eucariotos têm diferentes números de cromossomos lineares.

Cromossomos politênicos

Cromossomos gigantes que resultam do pareamento de muitas cromátides irmãs que se mantêm juntas, completamente pareadas e que se formam após cada ciclo endomitótico, no qual não ocorre divisão nuclear. É encontrado em algumas células de dípteros.

Dimorfismo sexual

Diferenças morfológicas observadas entre machos e fêmeas de uma mesma espécie, excetuando-se a genitália.

DNA polimerase

Enzima envolvida principalmente no processo de replicação do DNA. A partir de uma fita simples, que funciona como molde, ocorre a síntese de uma fita complementar e a conseqüente produção de um DNA de fita dupla.

Eletroforese

Método para separação de macromoléculas (DNA, RNA, proteínas) que em geral utiliza uma matriz de gel ao qual se aplica um campo elétrico. A separação ocorre pela diferença de migração das moléculas, devido ao seu tamanho e carga elétrica.

Enzimas de restrição

Proteínas derivadas de bactérias que reconhecem seqüências curtas e específicas de nucleotídeos, e clivam a molécula de DNA no sítio de reconhecimento ou próximo dele. Existe uma grande variedade destas enzimas, largamente utilizadas nos estudos de genética moleculares.

FISH: “fluorescent in situ hybridization”

Método de mapeamento genético que é feito pela hibridização molecular de uma sonda marcada com material fluorescente diretamente sobre cromossomos parcialmente desnaturados. A fluorescência revela os locais de hibridização no cromossomo.

Fusão Robertsoniana

Varição estrutural nos cromossomos que pode resultar de uma translocação recíproca envolvendo dois cromossomos acrocêntricos ou telocêntricos, ou da fusão de dois cromossomos telocêntricos pelos centrômeros ou próximo deles.

Herdabilidade

Medida de um caráter quantitativo que expressa a proporção da variância fenotípica total que é atribuída a causas genéticas. É representada por $h^2 = VG/VP$, onde h^2 é a herdabilidade, VG é

a variância genética e VP a variância fenotípica total. Seu valor varia entre zero e um. Quanto maior o seu valor, maior a variabilidade genética do caráter.

Isozima (isoenzima)

Uma das múltiplas formas de uma enzima. Quando são codificadas por alelos diferentes de um mesmo loco são chamadas de alozimas.

Mitocôndria

Organela presente nas células de eucariotos, na qual ocorre o processo de respiração celular. Ela é responsável pelo fornecimento de energia à célula pela síntese de moléculas de ATP. A mitocôndria tem DNA independente (mtDNA) que codifica proteínas, tRNA e rRNA.

mtDNA

Veja mitocôndria

NOR – Região organizadora do nucléolo

Região de um ou mais cromossomos que contém genes repetidos que codificam rRNA (RNA ribossômico). Região onde ocorre a formação do nucléolo.

Nucléolo

Estrutura de formato irregular formada no cromossomo, no núcleo de células em interfase. No nucléolo ocorre a síntese de rRNA e formação dos ribossomos. Desaparece durante a divisão celular.

PCA

Veja: análise de componentes principais

PCR: reação em cadeia da polimerase

Método para a amplificação de um segmento de DNA ou RNA, por ciclos repetidos de síntese in vitro, onde os novos segmentos sintetizados servem como modelos adicionais para as mesmas seqüências, nas reações subsequentes, criando uma reação em cadeia, possibilitando a síntese de grande quantidade de material em período muito curto.

Poligênico

Veja caráter quantitativo e QTL.

Polimorfismo

Ocorrência de duas ou mais formas numa população onde a frequência da mais rara não pode ser explicada por mutação recorrente. Operacionalmente por ser definido como a ocorrência num loco de dois alelos numa mesma população, cuja frequência não é menor que 1%.

Poliploidia:

Um tipo de variação no número de cromossomos na qual a célula têm três ou mais conjuntos de cromossomos, que são aqueles encontrados numa célula haplóide do mesmo organismo ou espécie. É de ocorrência comum em plantas e surge por não disjunção dos cromossomos durante as divisões celulares. Mais da metade dos eventos de especiação em angiospermas estão associados à poliploidia.

QTL: “quantitative trait loci” (“locos de caracteres quantitativos”)

Os múltiplos genes que afetam um caráter quantitativo são chamados de poligenes. Quando são localizados num segmento cromossômico são chamados de QTL.

RAPD (“random amplified polymorphic DNA”)

Método para detectar polimorfismo genético, no qual se usa a reação em cadeia da polimerase (PCR) com “primers” arbitrários, para revelar a presença ou ausência de determinados segmentos de DNA, em diferentes amostras da população.

RFLP (“Restriction fragment length polymorphism”)

Polimorfismo de DNA que é observado quando uma molécula de DNA é clivada por uma determinada enzima de restrição, produzindo fragmentos de DNA de diferentes tamanhos, devido à presença ou ausência ao longo da molécula, das seqüências específicas reconhecidas pela enzima. Deste modo, algumas moléculas de DNA de uma população têm determinados sítios de reconhecimento e outras não.

Seqüenciamento de DNA

Identificação da seqüência de nucleotídeos em um fragmento de DNA

Sonda (“probe”)

Um segmento de fita simples de DNA ou RNA, marcado por meios radioativos ou imunológicos, que é usado para detectar genes ou seqüências de interesse, por meio do pareamento de bases complementares (hibridização) desta sonda com o material desnaturado sob análise. Veja Southern blot.

Southern Blot

Método para identificar seqüências de DNA, a partir de fragmentos de DNA separados por eletroforese, os quais são transferidos para uma membrana de nitrocelulose ou nylon que é banhada em uma solução contendo sondas de DNA marcadas com material radioativo. Os locais sobre a membrana onde ocorreu a hibridização da sonda com a fita de DNA complementar é identificado por bandas formadas pelo material radioativo sobre uma folha de filme fotográfico colocado sobre a membrana.

Translocações

Transferência de um segmento de um cromossomo para outro não homólogo. A translocação pode ser simples, quando somente um segmento é translocado de um cromossomo para outro, ou recíproca, quando dois cromossomos trocam segmentos entre si.

Dois Glossários de Genética estão disponíveis nas seguintes páginas:

<http://hal.weihenstephan.de/genglos/asp/genreq.asp?list=1>

<http://www.bartleby.com/61/catpages/Genetics.html>