

na tolerância de fungos à radiação solar e para o estudo dos efeitos moleculares da fotossensibilização. A primeira etapa do projeto será conduzida com *Saccharomyces cerevisiae*. A identificação dos genes será feita por meio da comparação de transcriptomas de células expostas com os de células não expostas à radiação obtida com a utilização de *microarray* de DNA. A identificação de proteínas será realizada por meio da comparação de proteomas de células expostas e com os de células não-expostas à radiação. As proteínas totais serão separadas por eletroforese bidimensional e os contrastes serão isolados e analisados por meio de Maldi-TOF MS. A identificação das proteínas contrastantes será feita por meio de comparações com bancos de dados de proteínas de levedura. As mesmas abordagens serão utilizadas para o estudo dos efeitos moleculares do tratamento do fungo com substâncias fotossensibilizadoras. Na segunda etapa, serão conduzidos estudos de fotobiologia e de fotoquímica de conídios do deuteromiceto entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* objetivando a identificação de genes envolvidos na tolerância à radiação solar expressos durante a conidiogênese e a identificação de substâncias fotoprotetoras presentes nos conídios.

233

Isolamento e caracterização de transcritos sexo-específicos em peixes utilizando a técnica de DDRT-PCR (Differential Display Reverse Transcriptase)

Adriane Pinto Wasko

Instituto de Biociências de Botucatu
Universidade Estadual Paulista (Unesp)
Processo 2003/06761-1
Vigência: 1/12/2003 a 30/11/2006

O Departamento de Morfologia do Instituto de Biociências da Unesp/Botucatu possui diversas linhas de pesquisa nas áreas de biologia celular e molecular, histologia e embriologia que, entre outras, incluem estudos sobre efeitos de substâncias cancerígenas e de drogas, biologia da reprodução e do desenvolvimento, determinação e diferenciação sexual, citogenética, genética evolutiva e molecular, identificação e caracterização de proteínas contráteis e histofisiologia e histopatologia dos aparelhos reprodutores feminino e masculino. Embora várias metodologias sejam utilizadas para o desenvolvimento desses estudos, tecnologias de expressão gênica diferencial ainda não são aplicadas e mostram-se extremamente importantes para sua complementação, fortificação e atualização. Nos últimos anos, diversas metodologias que permitem a identificação de transcritos diferencialmente expressos, ou seja, genes expressos como RNAs mensageiros para síntese de proteínas e que diferem em abundância entre diferentes amostras, vêm sendo descritas. Entre estas, a técnica de *display* diferencial (DO) representa uma metodologia relativamente simples e de baixo custo que constitui um modelo adequado para a

implementação de estudos de expressão gênica diferencial – por meio de transcrição reversa de RNA utilizando um *primer* ancorador, seguida de reação em cadeia da polimerase (PCR) do DNA complementar utilizando um *primer* arbitrário, diferenças de expressão gênica entre amostras distintas podem ser visualizadas por meio de eletroforese em gel de poliacrilamida. Como objeto inicial de estudos em expressão gênica diferencial utilizando a técnica de *display* diferencial, a espécie *Leporinus macrocephalus*, peixe de grande importância econômica para a pesca e para a piscicultura nacional e que apresenta um sistema cromossômico de determinação sexual do tipo ZZ/ZW, foi selecionada para a identificação e caracterização de transcritos sexo-específicos. Os resultados configurarão dados extremamente importantes para a compreensão da origem e da evolução dos mecanismos de determinação e diferenciação sexual em peixes e, de modo geral, em vertebrados.

234

Uso de marcadores Radp na análise genética de árvores matrizes vs. populações derivadas que formam parte do banco de germoplasma da floresta da USP-RP

Ana Lilia Alzate Marin

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
Universidade de São Paulo (USP)
Processo 2003/04199-4
Vigência: 1/4/2004 a 31/3/2009

Áreas de florestas tropicais têm diminuído progressivamente, para dar lugar a campos de agricultura, de pastagens e a extensas áreas de terras degradadas, com grande perda da biodiversidade. Na região de Ribeirão Preto, existem somente pequenas manchas de mata nativa em algumas fazendas, nos limites da cidade e no bosque municipal. Ante a urgência da disponibilidade de áreas para reflorestamento na região de Ribeirão Preto (pois o município conta com apenas 1,46% de sua área florestada, aproximadamente 0,36m²/habitante quando a recomendação da OMS é de 12m²/habitante – Sema, 1995) e o resgate das espécies arbóreas nativas regionais, iniciou-se, em 1997, a instalação de uma área de reflorestamento heterogêneo e a criação de um banco genético de sementes (banco de germoplasma). A manutenção da diversidade genética das espécies florestais que constituem este banco localizado na “floresta da USP-RP” assegurará a sua sobrevivência, permitindo o resgate de espécies da flora regional da mata estacional semidecidual. Futuramente este banco fornecerá sementes com garantida diversidade genética contribuindo para a efetiva recuperação de áreas degradadas em programas de reflorestamento florestal da região. Também, esta floresta favorecerá as condições climáticas e ambientais para a melhoria da vida da população, para uma região onde a cultura da cana-de-açúcar ocupa quase 100% da paisagem. Assim, para evitar a perda da variação

adaptativa e a depressão por consanguinidade das espécies que formam este banco, este trabalho tem como objetivos analisar sua diversidade genética no nível de DNA. Marcadores moleculares tipo *Rapd* serão utilizados para estudar a variabilidade das 44 espécies que estão sendo preservadas no banco de germoplasma da floresta da USP-RP. Será estudada a variabilidade genética: a) entre as 25 árvores matrizes de cada espécie localizadas nas bacias dos rios Pardo e Mogi-Guaçu; e b) entre as árvores matrizes de cada espécie, localizadas nas bacias dos rios Pardo e Mogi-Guaçu vs. progênies derivadas destas plantas localizadas no banco de germoplasma da floresta da USP-RP (Bloco B). Como impacto dos resultados deste trabalho, se espera: a) a manutenção da diversidade genética de espécies que constituem o banco de germoplasma da floresta da USP, assegurando a sobrevivência de espécies da flora regional da mata estacional semidecidual; b) em termos biológicos e ambientais, a sobrevivência das florestas propiciará principalmente a manutenção das condições de vida para um grande número de formas de vida vegetal e animal, mantendo a umidade necessária para a existência de um clima propício à vida e a qualidade dos recursos hídricos; e c) O *campus* da USP-RP conta com poucos pesquisadores na área de genética vegetal e nenhum laboratório voltado para a pesquisa na área do presente projeto; a concessão desses recursos abrirá essa nova linha de pesquisa e servirá como base para a formação de estudantes de graduação e pós-graduação, além de permitir a integração de um grupo de pesquisadores que continuarão os trabalhos científicos relacionados à floresta da USP-RP.

235

Caracterização genética de híbridos utilizados na piscicultura brasileira com a aplicação de métodos citogenéticos e moleculares

Fábio Porto Foresti

Faculdade de Ciências de Bauri

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Processo 2003/03194-9

Vigência: 1/11/2003 a 31/1/2008

A piscicultura vem assumindo no Brasil um importante papel na economia nacional como uma alternativa de diversificação de negócios agropecuários, otimizando recursos disponíveis e resíduos não aproveitados em propriedades rurais. A partir dos anos 1980, abordagens genéticas passaram a contribuir nos programas de criação de peixes e no emprego de técnicas clássicas e modernas, passando a ser possível a manipulação cromossômica e a obtenção de linhagens vantajosas para a comercialização. Neste contexto, a utilização das técnicas de manipulação cromossômica merece atenção especial, com relação às suas vantagens e respectivas consequências, por todos os que trabalham em piscicultura, tendo em vista sua grada-

tiva incorporação às rotinas dos programas de produção desenvolvidos em nível mundial e desde há alguns anos também aplicadas em nosso país. Dentre as metodologias clássicas de manipulação genética que mais têm sido aplicadas nas pisciculturas, a hibridação interespecífica visa ao aumento da produtividade e à obtenção de linhagens estéreis de peixes e já faz parte da rotina de muitas estações de piscicultura. O uso dessa metodologia apresenta boas vantagens ao produtor, traduzidas pela facilidade no manejo e na sua execução prática, permitindo até mesmo que seja aplicada em cultivos do tipo extensivo. Os resultados obtidos por meio dessa técnica precisam, no entanto, ser cuidadosamente interpretados, devido à grande quantidade e heterogeneidade de produtos híbridos que podem resultar dos cruzamentos interespecíficos de peixes. Assim, torna-se de grande importância que esses resultados sejam devidamente analisados, tanto do ponto de vista zootécnico quanto genético. Tal preocupação é relevante, pois diz respeito aos riscos biológicos potenciais que os híbridos podem representar ao meio ambiente, entre os quais a possibilidade de competir, de diversas formas, com as linhagens parentais ou ainda de “contaminar geneticamente” estoques naturais ou cultivados, caso sejam férteis. A caracterização e a identificação genética de estoques que sofreram manipulação genética são um procedimento bastante recomendável para as estações de piscicultura que utilizam essas técnicas no melhoramento animal. O monitoramento genético de produtos resultantes de processos de hibridação interespecífica consiste no uso de metodologias que possibilitam encontrar características diagnósticas, morfológicas e/ou genéticas, que identifiquem, de maneira clara e acessível, parentais e híbridos. Para a obtenção de marcadores genéticos, as análises mais utilizadas são as citogenéticas e as genético-moleculares. A identificação e o monitoramento genético de híbridos produzidos nas estações de reprodução de peixes são práticas de grande importância e devem acompanhar os programas de hibridação aplicados à piscicultura. Com o conhecimento do perfil genético desses animais, associado à aplicação de práticas corretas de manejo, os possíveis problemas decorrentes do uso de animais geneticamente manipulados podem ser evitados ou minimizados. Por outro lado, o emprego de marcadores citogenéticos e/ou genético-moleculares tem como objetivo principal a caracterização e a diferenciação das espécies parentais e das linhagens de híbridos interespecíficos artificiais, no intuito de contribuir para o melhor entendimento da dinâmica do processo de hibridação interespecífica em peixes e também de fornecer subsídios para o monitoramento de projetos de hibridação a serem desenvolvidos em pisciculturas, na orientação de programas de conservação biológica. O resultado esperado é a possibilidade de um manejo adequado dos estoques naturais e cultivados de peixes, da produção de indivíduos diferenciados pelas pisciculturas, com boas características