

Diversidade Genética

Fabrício R. Santos¹
Daniela R. Lacerda¹
Rodrigo A. F. Redondo¹
Andréa M. A. Nascimento¹
Edmar Chartone-Souza¹
Eduardo L. Borba¹
Renata A. Ribeiro¹
Maria Bernadete Lovato¹

¹ Universidade Federal de Minas Gerais

Introdução

A biodiversidade é produto da evolução biológica cuja variedade de formas é resultado do acúmulo de variações hereditárias, inicialmente polimórficas dentro de espécies que, posteriormente, se fixam em unidades taxonômicas, como as espécies. Assim, todas as formas de vida do planeta são caracterizadas por variações genéticas que podem ser estudadas para fins de inventário biológico e conservação, por exemplo. A diversidade genética se refere a toda variação biológica hereditária acumulada durante o processo evolutivo, gerada, fundamentalmente, por mutação na sequência nucleotídica durante a replicação do DNA. Quando esta variação ocorre entre indivíduos da mesma espécie, chamamos de polimorfismos ou diversidade intraespecífica. Quando esta variação ocorre entre espécies, sendo fixada dentro de cada táxon, dizemos que se deu uma substituição de caráter, que pode ser nucleotídica (DNA) ou aminoacídica (proteína). As variações genéticas intraespecíficas são investigadas quando buscamos compreender as relações entre indivíduos e populações de cada espécie. Portanto, quando nosso interesse é saber qual o parentesco entre indivíduos, se existe ou não fluxo gênico entre populações ou qual o status de conservação de uma espécie em particular, estudamos a variação genética intraespecífica. Por outro lado, a diversidade genética entre espécies é avaliada quando queremos compreender as relações filogenéticas nos vários níveis taxonômicos (espécies, gêneros, famílias, ordens etc.) ou caracterizar espécies por meio da identificação de marcadores conservados que permitam sua diferenciação.

A variação genética expressada é chamada de fenotípica e pode ser identificada, geralmente, por diferenças em moléculas de proteína, características fisiológicas e bioquímicas diversas e também por variações cromossômicas, comportamentais e morfológicas. A variação genotípica se refere primariamente à informação contida no genoma de cada indivíduo, que é herdada pela prole a partir de seus genitores, e que pode expressar ou não alguma variação fenotípica. Por outro lado, quase toda variação fenotípica é o reflexo de alguma variação genotípica, com exceção de casos em que características são influenciadas pelo ambiente. Portanto, quase todos os estudos feitos com diversidade morfológica são também genéticos, já que se assume que os caracteres são expressos a partir dos variantes genotípicos.

A compreensão da diversidade genética nos níveis intra e interespecíficos, dos pontos de vista genotípico e fenotípico, é imprescindível para o conhecimento e o monitoramento da biodiversidade.

A variabilidade genética intraespecífica é fundamental para a persistência das espécies na natureza, portanto o diagnóstico do quanto existe de variação genética e de como ela é distribuída geograficamente em cada espécie é necessário para caracterização de seu status de conservação. No nível interespecífico, o estudo da variação entre espécies permite análises taxonômicas e filogenéticas.

Atualmente, a Genética é considerada como peça fundamental dentro da nova disciplina da Biologia da Conservação, sendo um dos pontos temáticos de grande importância na CDB (Convenção de Diversidade Biológica). Estamos chegando a um momento de fusão dos conhecimentos gerados pelos primeiros naturalistas, pelos pesquisadores em conservação da biodiversidade do século XX, com os dados obtidos diretamente a partir da informação hereditária, que começaram a ser efetivamente produzidos há menos de duas décadas, através da biologia molecular.

Histórico dos Estudos de Diversidade Genética em Minas Gerais e no Brasil

Um levantamento sobre estudos de diversidade genética no Brasil foi feito recentemente (Klaczko & Vieira, 2006). Os primeiros estudos com diversidade genética em espécies de Minas Gerais datam da década de 1950, feitos pelo Professor Giorgio Schreiber, da UFMG, que estudava variações de morfologia cromossômica através de ferramentas da Citogenética (citofotometria). Estes primeiros estudos citogenéticos visavam a descrição dos cariótipos de algumas espécies nativas do Brasil, muitas de interesse em medicina. Os dados da citogenética podem trazer uma série de evidências relevantes para conservação, tal como identificação de zonas híbridas, discriminação de espécies crípticas, identificação do sexo dos indivíduos etc. Atualmente, há uma fusão de experimentos de citogenética com a área molecular que permite, por exemplo, identificar regiões cromossômicas específicas relacionadas a problemas reprodutivos nas espécies em perigo de extinção.

O uso de moléculas em biologia da conservação se deu a partir da descoberta de uma grande quantidade de variações em proteínas, geralmente enzimas, que poderiam ser facilmente identificadas e discriminadas em análise de géis submetidos à eletroforese. Estas proteínas variáveis, as alozimas, têm sido utilizadas em inúmeros estudos com espécies da fauna e da flora. O uso do DNA em estudos da diversidade e da conservação é bem recente, principalmente no

Brasil. Um marco importante foi o II Encontro Internacional em Impressão Digital de DNA, ocorrido no ano de 1992, em Belo Horizonte, MG. Nesse evento, vários pesquisadores, muitos deles recém-ingressados na genética da conservação (disciplina da Biologia da Conservação que se utiliza de dados genéticos), apresentaram os primeiros estudos com DNA da fauna nativa brasileira.

1.2. Principais Grupos de Pesquisa em Diversidade Genética e Biodiversidade em Minas Gerais

Entre os Grupos de Pesquisa do CNPq, mais de 100 trabalham com genética e biodiversidade ou genética e conservação. Abaixo (Quadro 1) apresentamos uma listagem com alguns desses grupos de pesquisa que estão vinculados a instituições mineiras e que atuam nas mais diversas áreas envolvendo zoologia, botânica, ecologia, biologia geral, microbiologia, genética e biologia molecular. Grupos de pesquisa que utilizam genética como ferramenta rotineira de análise estão marcados com um asterisco (*).

Quadro 1. Grupos de Pesquisa em Genética e Conservação que atuam em Minas Gerais.

INSTITUIÇÃO	GRUPO DE PESQUISA (CNPQ)	MEMBROS DO GRUPO
PUC Minas	Conservação, ecologia e comportamento animal	Robert John Young
UEMG	Estudos de Ecologia	Odila Rigolin de Sá
UEMG	Grupo de Estudos da Biodiversidade e Conservação da Zona da Mata Mineira	Braz Antonio Pereira Cosenza e Fabiano Rodrigues de Melo
UFJF	Genética, Biotecnologia e Biodiversidade Vegetal*	Lyderson Facio Viccini e Marcelo de Oliveira Santos
UFLA	Ecologia de ecossistemas fragmentados	Douglas Antonio de Carvalho e Ary Teixeira de Oliveira Filho
UFLA	Microbiologia e Bioquímica do Solo	José Oswaldo Siqueira
UFMG	Citogenética Evolutiva*	Marta Svartman
UFMG	Genética de populações e genética evolutiva*	Maria Bernadete Lovato e Cleusa Graça da Fonseca
UFMG	Laboratório de Biodiversidade e Evolução Molecular*	Fabício Rodrigues dos Santos, Rodrigo A.F. Redondo e Daniela R. Lacerda

continuação

INSTITUIÇÃO	GRUPO DE PESQUISA (CNPQ)	MEMBROS DO GRUPO
UFMG	Genética Molecular e de Micro-organismos*	Edmar Chartone de Souza, Andréa M. Amaral Nascimento, Adlane Vilas Boas Ferreira e Mônica Bucciarelli Rodriguez
UFMG	GEPLAMT - Grupo de Estudos e Pesquisas de Plantas Aromáticas, Medicinais e Tóxicas	Maria das Graças Lins Brandão e Roberto Luis de Melo Monte-Mór
UFMG	Sistemática de Plantas Vasculares*	João Renato Stehmann, João Aguiar N. Batista e Eduardo Leite Borba
UFMG	Ecologia de Interações animal-planta	Claudia Maria Jacobi
UFMG	Ecologia, demografia e genética de populações de anelídeos*	Maria Raquel Santos Carvalho e Rogerio Parentoni Martins
UFMG	Ecologia Evolutiva e Biodiversidade	Geraldo Wilson Afonso Fernandes
UFMG	Transposição de Peixes	Alexandre Lima Godinho e Carlos Barreira Martinez
UFMG	Malacologia e sistemática molecular*	Teofania Heloisa Dutra Amorim Vidigal
UFMG	Biologia da Conservação, Mastozoologia e Manejo de Fauna	Gustavo Alberto Bouchardet da Fonseca
UFMG	Biodiversidade e biotecnologia de leveduras*	Carlos Augusto Rosa e Ary Correa Junior
UFMG	Transposição de Peixes	Alexandre Godinho
UFMG	Sistemática e biodiversidade de aranhas	Adalberto José dos Santos
UFOP	Ecologia e evolução de adaptações anatômicas em plantas neotropicais	Hildeberto Caldas de Sousa e Sérvio Pontes Ribeiro
UFSJ	Avaliação da variabilidade genética e conservação da biodiversidade*	Aparecida Célia P. dos Santos e Warwick Estevam Kerr
UFU	Ecologia Evolutiva	Cecilia Lomônaco de Paula
UFU	Fisiologia dos Sistemas Orgânicos	Frederico Rogério Ferreira e Vanessa Beatriz Monteiro Galassi Spini
UFV	Biologia, Genética, Patologia e Ecologia de Abelhas, Vespas e Formigas*	Lúcio Antonio de O. Campos e Sílvia das Graças Pompolo

continua >

continuação

INSTITUIÇÃO	GRUPO DE PESQUISA (CNPQ)	MEMBROS DO GRUPO
UFV	Vegetação de ecossistemas naturais: ecologia, taxonomia, anatomia e avaliação de impactos ambientais	Milene Faria Vieira e Wagner Campos Otoni
UFV	Filogeografia molecular e bioprospecção*	Luiz Orlando de Oliveira
UFV	Biologia e Produção Aquática	Ana Lúcia Salaro e Jener Alexandre Sampaio Zuanon
UFV	Biodiversidade de Vertebrados*	Jorge A. Dergam dos Santos e Renato Alves Feio
UFV	Estudo da Fragmentação de Habitats Através da Inferência da Variabilidade Genética de Populações Naturais*	Karla Suemy Clemente Yotoko
UFV	Biologia de Populações de Fitopatógenos: Epidemiologia Molecular e Genética Evolutiva*	Eduardo Seiti Gomide Mizubuti
UFV	Biologia e Produção Aquática	Ana Lúcia Salaro
FIOCRUZ	Taxonomia de flebotomíneos/Epidemiologia, diagnóstico e controle das leishmanioses	Edelberto Santos Dias e Celia Maria Ferreira Gontijo
UNIFAL/MG	Limnologia	Maria José dos Santos Wisniewski
UNIFAL/MG	Biologia celular e molecular de micro-organismos*	Marília Caixeta Franco
UNIMONTES	Conservação, bioprospecção e uso sustentável de recursos naturais do Cerrado e Caatinga*	Dario Alves de Oliveira e Marcilio Fagundes

Esta listagem foi produzida a partir de buscas por palavras-chave (genética, DNA, conservação, biodiversidade) no Diretório CNPq/Lattes entre os grupos de pesquisa de Minas Gerais. Vários outros pesquisadores e grupos de pesquisa de outros Estados não foram listados, mas também geram dados sobre diversidade genética referentes à biodiversidade nativa de Minas Gerais. Alguns deles se encontram na bibliografia de referência (ver final).

Coleções Biológicas com Depósito de Material Genético de Minas Gerais

Há inúmeras coleções em Minas Gerais e no Brasil, especializadas em diferentes grupos taxonômicos representantes da biodiversidade de nosso Estado (ver Capítulo Coleções Biológicas). Neste capítulo

faremos referência apenas às coleções de tecidos ou DNA de Metazoários e Plantas para estudos genéticos (coleções de outros grupos taxonômicos serão tratados em detalhe nos capítulos específicos). Muitas das amostras depositadas nestas coleções possuem informações que podem ser utilizadas em estudos diversos, e foram coletadas principalmente a partir de inventários biológicos e estudos populacionais (Santos *et al.*, 2002, 2004; Santos, 2004). A maior parte do material coletado, seja sangue, fragmentos de pele, folhas e outros, desde que armazenado adequadamente, seco, refrigerado ou em álcool (animais), pode ser utilizado para estudos genéticos, embora com algumas limitações. Por outro lado, material biológico preservado com formol ou material vegetal secado em álcool não é passível de análise do DNA, pois este se degrada sob estas condições.

Desde 2002, o Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN), vinculado ao Departamento de Patrimônio Genético (DPG) do MMA, tem credenciado coleções como fiéis depositárias de material biológico para estudos genéticos. A primeira coleção de Minas Gerais credenciada exclusivamente para este fim foi o Banco de DNA do Laboratório de Biodiversidade e Evolução Molecular (BD-LBEM) do Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), cujo curador é o Prof. Fabrício R. Santos (ver detalhes adiante). Outra coleção credenciada atualmente é a do Herbário do Departamento de Botânica da UFMG, que armazena e disponibiliza material biológico vegetal para estudos genéticos diversos, incluindo um projeto de bioprospecção associado à FIOCRUZ e financiado pela FAPEMIG. Em Minas Gerais, outras coleções credenciadas incluem a do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa (UFV) e os Herbários da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) e da Fundação Zoo-Botânica de Belo Horizonte. Outras coleções de Minas Gerais ainda não credenciadas também podem ser igualmente utilizadas para estudos genéticos diversos, desde que possuam material disponível e armazenado de forma adequada.

No Brasil, várias outras coleções credenciadas pelo CGEN possuem espécimes referentes à biodiversidade de Minas Gerais: coleções do Museu de Zoologia e dos Herbários do Departamento de Botânica e da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz-ESALQ, da Universidade de São Paulo (USP); coleções do Instituto de Biologia, do Museu Nacional, do Herbário e do Jardim Botânico da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ); Departamento de Zoologia e Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília (UnB); Herbário da Universidade Estadual de

Feira de Santana (UEFS); coleção de Aves Aquáticas Brasileiras e coleção do Departamento de Genética e Evolução da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar); coleção de Tecidos e Banco de Células de Anfíbios, do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP); Banco de DNA de Animais Selvagens da Universidade Federal Fluminense (UFF); Herbário do Instituto Florestal de São Paulo (IFSP); coleção de Aves e Mamíferos Selvagens da Universidade Estadual Paulista (UNESP). Além dessas coleções credenciadas, várias outras possuem material relativo à biodiversidade de Minas Gerais e podem ser igualmente acessadas. No entanto, com algumas exceções, poucas coleções disponibilizam seu banco de dados para acesso a informações sobre o material depositado.

A Coleção BD-LBEM do Departamento de Biologia Geral da UFMG

O início desta coleção se deu em 1998, incentivado por publicações recentes (Ryder *et al.*, 2000; para revisão, veja Santos *et al.*, 2002) que ressaltavam a importância de coleções de DNA para estudos genéticos a partir da biodiversidade nativa. Com fundos do incentivo a recém-doutores da Pró-Reitoria de Pesquisa da UFMG, iniciou-se a implantação da infraestrutura necessária para implementação da coleção. No ano de 2003, o BD-LBEM obteve o credenciamento como fiel depositário do patrimônio genético brasileiro no CGEN (Deliberação 46 de 18/12/2003). Inicialmente especializado em depósitos de tecidos e DNA de Vertebrados, principalmente mamíferos e aves, atualmente a coleção também conta com depósitos de vegetais e de micro-organismos. Em 2004, foi obtido financiamento do CNPq para montagem do banco de dados e ferramentas de entrada de dados, busca e impressão de relatórios, que deverá estar disponível em outubro de 2008. O banco de dados em Access está em fase adiantada e permitirá o controle informatizado dos espécimes (vertebrados) e a divulgação, via internet, de todo o material biológico depositado.

Tabela 1. Material biológico depositado na coleção BD-LBEM (Dep. Biologia Geral-UFMG).

GRUPO TAXONÔMICO	ESPÉCIMES	ESPÉCIES
Anfíbios	17	10
Répteis	30	16
Aves	2.025	271

continua >

continuação

GRUPO TAXONÔMICO	ESPÉCIMES	ESPÉCIES
Mamíferos	1.080	94
Vegetais*	~500	>20
Micro-organismos *	>3.000	>50
Total	>6.500	>450

* A coleção de DNA de vegetais encontra-se no Laboratório de Genética de Populações, e a de micro-organismos se encontra no Lab. de Genética de Micro-organismos, ambos do Departamento de Biologia Geral, ICB, UFMG.

Metodologia de Estudos Genéticos

Um levantamento detalhado sobre a metodologia de estudos envolvendo dados genéticos foi recentemente publicado (Klaczko & Vieira, 2006). Faremos aqui apenas um breve histórico e relato de como a genética tem sido incorporada aos estudos de biodiversidade.

Desde princípios do século XX, com a citogenética, e, nos últimos 40 anos, com as isoenzimas, é que se iniciou a análise da variação genética em populações naturais (Hamrick & Godt, 1989). O emprego do DNA no estudo da diversidade começou nos primeiros anos da década de 1980, com o advento das metodologias de impressão digital de DNA, que utilizavam grandes quantidades de DNA genômico e metodologias diversas de detecção de variação genética (Borém & Santos, 2008). No entanto, foi apenas após o desenvolvimento da reação de polimerase em cadeia, ou PCR (*Polymerase Chain Reaction*), a partir de meados da década de 1980, é que houve uma verdadeira revolução em termos de estudos genéticos com a biodiversidade (Ferreira & Grattapaglia, 1995; Borém & Santos, 2008).

Entretanto, a necessidade de conhecimentos prévios sobre a sequência de nucleotídeos da espécie a ser estudada, os custos elevados para obtenção destes conhecimentos e para realização das análises limitaram, durante alguns anos, a aplicação das novas técnicas desenvolvidas com base em PCR (Ferreira & Grattapaglia, 1995). Desta forma, a técnica de RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA* Williams *et al.*, 1990) se tornou amplamente utilizada por ser rápida, simples, econômica e, principalmente, por não requerer nenhum conhecimento prévio da genética da espécie sob investigação. Estudos de genética com diferentes espécies da biodiversidade puderam

ser também feitos com DNA mitocondrial (DNAm_t) desde meados da década de 1980 (Avisé *et al.*, 1987), já que iniciadores (*primers*) universais se mostraram efetivos para o estudo de várias espécies animais.

Atualmente, já foram publicados genomas de várias espécies com o advento das técnicas de sequenciamento de DNA em larga escala (Borém & Santos, 2008). Isto tem permitido o estudo da variabilidade genética de várias outras espécies e diferentes regiões genômicas. Entre estas regiões, do genoma de eucariotos, incluem-se locos de éxons, íntrons e também de microssatélites e polimorfismos de sítios únicos (SNPs) que foram identificados e utilizados em vários estudos de variabilidade genética, com métodos diversos de genotipagem. Dependendo do tipo de variabilidade genética estudada, diferentes abordagens podem ser utilizadas nos níveis intra e interespecífico, incluindo estudos de paternidade, parentesco, fluxo gênico, divergência intra e interpopulacional, tempo de expansão demográfica, reconstruções filogenéticas e outras. Para o estudo da diversidade em procariotos, além da amplificação e sequenciamento do gene de rRNA 16S, têm sido usadas extensamente técnicas de fingerprinting genômico, como, ARDRA, ITS, tDNA e rep-PCR.

Estudos genéticos com a biodiversidade de Minas Gerais

A maior parte dos estudos envolvendo a diversidade genética está focada em unidades taxonômicas específicas. O grande desafio para execução de estudos nesta área geralmente reside na disponibilidade de metodologias que caracterizem a diversidade nos níveis intra e interespecíficos em um determinado grupo taxonômico. Com exceção de técnicas de RAPD e outros métodos aplicados a micro-organismos, a maior parte dos métodos desenvolvidos para espécies de clima temperado não se aplica diretamente às espécies neotropicais. Com o início da era genômica, em princípios dos anos 1990, os primeiros organismos-modelos tiveram seus genomas sequenciados e novas metodologias e equipamentos foram desenvolvidos, permitindo o estudo de inúmeras outras espécies. Abaixo, e nas referências bibliográficas, apresentamos um breve levantamento da produção científica sobre diversidade genética em micro-organismos, fauna e flora, com espécimes coletados em Minas Gerais. Obviamente, é uma subestimativa do que existe de estudos com espécies de nosso Estado, cujas amostras são muitas vezes incluídas em

artigos sem uma preocupação com sua origem geográfica. Além disto, os estudos apresentados representam apenas uma amostragem de estudos genéticos conduzidos por alguns grupos de pesquisa de Minas Gerais.

Micro-organismos

Estudos da diversidade bacteriana em Minas Gerais foram iniciados em 1973 no Laboratório de Genética de Micro-organismos (Departamento de Biologia Geral, ICB, UFMG) a partir de isolados de *Escherichia coli* (Chartone-Souza, 1975). Desde então, diversos estudos foram desenvolvidos, envolvendo o isolamento de várias bactérias de ambiente natural e impactado pela ação humana. Uma linhagem de *E. coli* (BH100) tem sido usada intensamente, desde então, em pesquisas e aulas experimentais na UFMG e em outras universidades brasileiras, assim como nas 12 edições do “Curso de Introdução a Biotecnologia” financiado pelo CNPq e FINEP, realizados em diversos locais no Brasil. O operon Hg desta bactéria foi clonado e expressado em experimento pioneiro em Minas Gerais, em 1985. Recentemente, foi também descrita e caracterizada molecularmente a presença de integron associado com resistência aos aminoglicosídeos nessa linhagem. Outro estudo com isolados de *Salmonella thyphimurium*, coletados nos ribeirões Arrudas e do Onça, além de vários outros, foram realizados focalizando, principalmente, resistência a drogas, produção de colicinas e perfil plasmidano (Chartone-Souza & Sant’Ana, 1985; Nascimento *et al.*, 1992a, b; Mattos *et al.*, 2000). Em 1997, foi realizado um estudo da associação da frequência de bactérias resistentes ao mercúrio e sua concentração nos sedimentos de diversos sítios do ribeirão do Carmo, MG (sítios de garimpagem de ouro ativo ou desativado) e da Estação Ecológica do Tripuí (nascente). Detetou-se associação moderada entre a distribuição de bactérias resistentes e a presença de compostos de mercúrio (Cursino *et al.*, 1999). Em outros estudos com isolados bacterianos de regiões menos impactadas, como no Parque Nacional da Serra do Cipó e no Parque Estadual do Rio Doce, foi encontrada alta frequência de resistência a drogas antibióticas e mercúrio (Lima-Bittencourt *et al.*, 2007a). Dentre estas bactérias, destaca-se a *Chromobacterium violaceum*, encontrada com grande frequência nas águas pristinas de riachos localizados no PARNA Serra do Cipó. Esta espécie apresenta grande interesse biotecnológico: uma linhagem de origem malaia teve seu genoma completamente seqüenciado no Brasil. Os isolados obtidos apresentaram considerável diversidade fenotípica e genética dentre eles e entre eles e isolados amazonenses e linhagem-tipo (Lima-Bittencourt *et al.*,

2007b). A partir de 2005, foram realizados estudos de bactérias, dependentes e independentes de cultivo, isoladas de rejeitos de uma indústria siderúrgica de Minas Gerais. Ao nosso conhecimento, esta foi a primeira caracterização da diversidade bacteriana em rejeitos de uma indústria de aço. Os resultados evidenciaram diversidade entre as bactérias dependentes de cultivo e, por meio de testes bioquímicos e fisiológicos e métodos moleculares, foram identificadas bactérias de diversos gêneros, com predominância de *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Micrococcus*. Outros gêneros identificados foram: *Diaphorobacter*, *Kocuria*, *Staphylococcus*, *Acinetobacter*, *Dietzia* e *Brevibacillus*. A partir das análises adicionais de *fingerprinting*, BOX, ERIC e GTG, detetou-se grande heterogeneidade entre os isolados do gênero *Bacillus*. As bibliotecas dos clones de gene de rRNA 16S, de rejeitos recém produzidos e depositados em área adjacente à indústria, mostraram considerável diversidade da microbiota cultivável ou não cultivável, salientando-se que a complexidade dessas comunidades bacterianas ainda não foi explorada. Portanto, o conhecimento dessa diversidade é relevante e pode representar o ponto de partida para estudos ecológicos das comunidades desses rejeitos e abrir perspectivas futuras para sua reciclagem, com óbvia repercussão econômica e ambiental (Freitas, 2007).

Outras pesquisas envolvendo isolamento, taxonomia e uso de leveduras, fungos e outras bactérias se encontram no Capítulo de Diversidade Microbiana, bem como sobre sua importância em biotecnologia (Capítulo de Biotecnologia). O estudo desses isolados microbianos demonstra a grande diversidade ainda não explorada e o grande potencial biotecnológico destes isolados provenientes de Minas Gerais.

Flora

Os estudos na UFMG sobre a diversidade genética da flora de Minas Gerais iniciaram-se com análises comparativas entre espécies congêneres pertencentes a diferentes biomas de Minas Gerais. Um dos primeiros estudos se deu com duas espécies arbóreas de *Plathymenia* (vinhático), uma nativa da Mata Atlântica e outra do Cerrado, utilizando-se os marcadores moleculares RAPD (Lacerda *et al.*, 2001, 2002). Esses trabalhos mostraram grande proximidade filogenética entre populações dos dois biomas e sugeriram existência de fluxo gênico entre elas. Em um trabalho taxonômico, utilizando também as evidências de fluxo gênico obtidas por Lacerda *et al.* (2002), Warwick & Lewis (2003) fundiram as duas espécies em uma única, a *Plathymenia reticulata*. O

vinhático tem sido utilizado para uma série de estudos ecológicos e genéticos, com o objetivo de entender as diferenças evolutivas, incluindo as adaptativas, entre os biomas Cerrado e Mata Atlântica, como fenologia (Goulart *et al.*, 2005a), morfologia (Goulart *et al.*, 2006) e germinação de sementes (Lacerda *et al.*, 2004) das populações de ambos os biomas. Atualmente, estão sendo realizados estudos ecofisiológicos e de filogeografia de populações de *Plathymenia reticulata* dos dois biomas, que já tem fornecido informações valiosas para subsidiar medidas para sua conservação. O caso do vinhático ilustra como os estudos de diversidade genética podem auxiliar no conhecimento da diversificação de linhagens entre biomas, o que tem implicações para a conservação e o manejo da diversidade.

Outra espécie que tem sido alvo de estudos genéticos é o jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nigra*), uma das espécies madeireiras mais valiosas e ameaçadas de extinção. Um estudo com alozimas, envolvendo populações do Parque Estadual do Rio Doce (Marliéria, Minas Gerais) e fragmentos de seu entorno, mostrou conseqüências genéticas da fragmentação e distúrbios antrópicos desta parte da Mata Atlântica, e evidenciaram a importância do Parque como reservatório de diversidade genética (Ribeiro *et al.*, 2005).

Recentemente, diversos estudos foram conduzidos por grupos de pesquisadores da UFMG, UFLA e de outros Estados, principalmente da Universidade Estadual de Campinas e da Universidade Estadual de Feira de Santana, utilizando alozimas para determinação da variabilidade genética e para aplicação na delimitação de espécies e detecção de hibridação de diversos grupos de plantas ocorrentes nos campos rupestres de Minas Gerais, especialmente para espécies de orquídeas dos gêneros *Acianthera* (Borba *et al.*, 2000, 2001) e *Bulbophyllum* (Azevedo *et al.*, 2006, 2007; Ribeiro *et al.*, 2008), compostas (Jesus, 2001; Jesus *et al.*, 2001; Azevedo, 2004), cactos (Moraes *et al.*, 2005), leguminosas (Botrel & Carvalho, 2004; Conceição *et al.*, 2008), Velloziaceae (Franceschinelli *et al.*, 2006) e Lauraceae (de Moraes & Derbyshire, 2002, 2003; de Moraes, 2007). Além destes, estudos utilizando marcadores RAPD também têm sido utilizados para espécies de compostas (Gomes *et al.*, 2004) e leguminosas (Silva *et al.*, 2007) que ocorrem nos campos rupestres do Estado, por grupos de pesquisadores da UFMG. Devido à descontinuidade das cadeias de montanhas e dos afloramentos rochosos, muitas espécies de plantas, especialmente as rupícolas, estão distribuídas em populações disjuntas. De forma geral, estes estudos têm demonstrado que esta característica dos campos rupestres é responsável pela diferenciação de populações de plantas nestes ambientes, levando

a elevada diversidade e alto nível de endemismos da vegetação de campo rupestre, considerada uma das maiores do Brasil. Estas conclusões possuem aplicação relevante na conservação destas espécies, uma vez que, nestes casos, cada população pode ter uma parcela significativa e única da variabilidade genética da espécie.

Estudos empregando alozimas também têm sido realizados em espécies de diversos grupos de plantas presentes em outras formações do Estado, como Mata Atlântica (Alcântara *et al.*, 2006), Cerrado (Melo Júnior *et al.*, 2004; Pinto & Carvalho, 2004; Estopa *et al.*, 2006; Jaegler *et al.*, 2007) e matas ciliares (Pinto *et al.*, 2004; Botrel *et al.*, 2005; Carvalho & Oliveira 2005; Souza *et al.*, 2007). Estes estudos têm sido desenvolvidos em sua maioria por um grupo de pesquisadores da Universidade Federal de Lavras, mas também por pesquisadores de outros Estados, principalmente da Universidade Estadual de Campinas.

Nos últimos anos foram iniciados trabalhos de filogeografia com sequências de DNA de cloroplasto em alguns laboratórios de Minas Gerais, envolvendo espécies de diferentes biomas do Estado, como *Dalbergia nigra*, *Dalbergia miscolobium* (jacarandá-do-cerrado), *Dimorphandra mollis* (faveiro do campo), *Hymenaea courbaril* (jatobá-da-mata), *Hymenaea stigonocarpa* (jatobá-do-cerrado), *Vellozia gigantea* (canela-de-ema), *Eremanthus erytropappus* (candeia) e *Ficus bonijesulapensis* (figueira). O estudo analisando o jatobá-do-cerrado, pioneiro nesta área, mostrou que a diversidade genética das populações atuais foi influenciada pelas mudanças climáticas que ocorreram no Pleistoceno, sugerindo locais de extinções de populações e de rotas de recolonização após a última glaciação (Ramos *et al.*, 2007). Outro trabalho recente, feito com DNA de cloroplasto, investiga a filogenia dos gêneros *Machaerium*, *Dalbergia* e outros (Ribeiro *et al.*, 2007).

Vários estudos genéticos com espécies arbóreas e arbustivas de Minas Gerais têm mostrado a grande diversidade de tipos de sistemas de cruzamento e a variação na estrutura genética populacional dessas espécies (ex. Carvalho *et al.*, 2002; Ribeiro & Lovato, 2004; Botrel *et al.*, 2005; Goulart *et al.*, 2005b; Louzada *et al.*, 2006; Vieira & Carvalho, 2008). Essa grande diversidade de sistemas aponta para a necessidade de estudos envolvendo os vários biomas de Minas Gerais, com espécies com diferentes características de história de vida, como diferentes tipos de dispersão de sementes e fluxo de pólen, tipos de cruzamento e amplitudes de distribuição geográfica. Só então se poderá ter um diagnóstico da diversidade e da estrutura genética de cada bioma. Esses conhecimentos

poderão orientar a utilização racional dessas espécies, de maneira a não comprometer sua diversidade, assim como indicar áreas prioritárias para a conservação das espécies, como também técnicas adequadas de manejo.

Fauna

Um número razoável de estudos de conservação e sistemática usando dados genéticos já foi executado com espécies da fauna brasileira (Klaczko & Vieira, 2006). Os primeiros trabalhos com genética de invertebrados foram feitos principalmente com animais de laboratório, porém trabalhos com populações naturais começaram a aparecer a partir da década de 1980. Hoje, trabalhos com diversidade genética de invertebrados são abundantes na literatura, a maioria com agentes etiológicos de doenças importantes como Tripanossomídeos (Macedo *et al.*, 1992) e vetores de doenças como Triatomídeos (dos Santos *et al.*, 2007), *Biomphalaria* (Vidigal *et al.*, 2004) e *Lutzomyia* (Mukhopadhyay *et al.*, 1998). Outros estudos com invertebrados ainda incluem animais peçonhentos (Nascimento *et al.*, 2006) e animais sem relevância para a área médica mas de grande importância no ecossistema, como abelhas, vespas e besouros (Maffei *et al.*, 2001; Querino & Zucchi, 2002), incluindo recentes trabalhos com dois invertebrados ameaçados de extinção, o *Peripatus* (DeLaat *et al.*, 2005; DeLaat, 2006) e o minhocaçu-do-cerrado, *Rhinodrilus alatus* (Siqueira, 2007).

Tratando-se da fauna de vertebrados, muitos estudos foram e ainda são feitos utilizando a citogenética como ferramenta de estudos genéticos (e.g., Silva & Yonenaga-Yassuda, 1997; Bonvicino *et al.*, 2002). Os primeiros estudos a lidar diretamente com DNA utilizaram marcadores moleculares do tipo impressão digital de DNA (Miyaki *et al.*, 1992, 1997) e RAPD em aves (Dantas *et al.*, 2007) e mamíferos (Yazbeck, 2002). No entanto, rapidamente começaram a aparecer estudos com o sequenciamento de locos específicos, como os de DNA mitocondrial (DNAmt). Além disso, através de parceria com grupos estrangeiros, marcadores do tipo microssatélite têm sido isolados para estudos de conservação em espécies de peixes e mamíferos do Estado de Minas Gerais (Yazbeck & Kalapothakis, 2007; Dias *et al.*, 2008).

Baseado na existência de iniciadores universais para o gene da Citocromo C Oxidase subunidade I (COI) do DNAmt, foi proposta uma metodologia de identificação taxonômica molecular, chamada

Código de Barras de DNA (DNA barcodes, Hebert *et al.*, 2003). Estudos específicos com o gene mitocondrial COI com várias espécies de passeriformes de Minas Gerais foram recentemente publicados (Vilaça *et al.*, 2006; Chaves *et al.*, 2008). Estes estudos com Tamnofilídeos e Tiranídeos, respectivamente, evidenciam a grande diversidade da avifauna neotropical e a complexidade taxonômica das espécies em Minas Gerais, revelando a necessidade de vários estudos genéticos de taxonomia clássica, além de novos inventários e coletas para compreensão mais detalhada desta rica biodiversidade. Por exemplo, no caso de algumas espécies de pássaros como *Suiriri suiriri*, *Casiornis sp.*, *Elaenia obscura*, *Thamnophilus caerulescens*, entre outros, são absolutamente necessárias coletas em toda sua distribuição geográfica, para averiguar problemas de sistemática identificados na análise molecular ou morfológica.

Um estudo detalhado com coleta abrangente é essencial para inúmeros outros táxons, particularmente ricos em espécies em Minas Gerais, tais como os Passeriformes, Quirópteros e Roedores. Por exemplo, estudos de sistemática e evolução molecular com quirópteros (Redondo & Santos, 2006; Redondo *et al.*, 2008) indicam a existência de táxons crípticos que merecem ser detalhadamente estudados. Inúmeras publicações indicam a subestimação do número de espécies, pelo menos entre mamíferos e aves. Alguns estudos com amostragem mais abrangente foram feitos com algumas espécies de passeriformes, utilizando abordagem filogeográfica (Lacerda, 2004; Pessoa *et al.*, 2006; Lacerda *et al.*, 2007; Cabanne *et al.*, 2007). No entanto, estes revelaram padrões complexos em várias das espécies analisadas, o que indica que não serão resolvidas várias dúvidas taxonômicas se não forem feitas mais análises moleculares e morfológicas, bem como amostragem ao longo de toda a área de ocorrência da espécie e/ou subespécie, que na maioria das vezes ocorrem em vários Estados brasileiros e em outros países.

Perspectivas de Estudos e Necessidades de Financiamento

Para estudos envolvendo diversidade genética de espécies da biodiversidade de Minas Gerais será necessário, inicialmente, grande investimento em infraestrutura e recursos humanos para inventários e coletas de material, e nas coleções científicas em museus e outras instituições para coleta, armazenamento e catalogação de material biológico para esta finalidade. Algumas coleções microbiológicas, zoológicas e herbários já contam com o depósito de amostras de DNA, tecidos

ou células que são ou podem ser utilizados nos estudos de diversidade genética. Um exemplo é o Centro de Coleções Taxonômicas (CCT) da UFMG, que possui a Coleção de DNA, atualmente no Departamento de Biologia Geral (BD-LBEM, ver acima). O apoio às coleções e sua vinculação às estratégias a serem adotadas em um grande programa de inventário taxonômico, tal como a função de centros de referência para depósito de material biológico, é fundamental. Além disso, é imprescindível a infraestrutura para as coletas, veículos, diárias, que sejam o mais abrangente possível no Estado de Minas Gerais.

A partir do material coletado e devidamente armazenado, os projetos em diversidade genética deverão seguir prioridades identificadas pelas avaliações do status atual da pesquisa em biodiversidade em Minas Gerais. Algumas dessas prioridades em alguns grupos taxonômicos foram apontadas neste capítulo, por grupos de pesquisa que já trabalham com questões relacionadas a sistemática e conservação usando ferramentas moleculares. No entanto, inúmeros novos questionamentos podem ser abordados com estudos genéticos, a partir do diagnóstico dos demais temas tratados neste texto. Espécies endêmicas de Minas Gerais e, obviamente, aquelas em qualquer categoria de ameaçadas ou quase-ameaçadas, devem ter estratégia própria. Por exemplo, como estudos genéticos, com ênfase nos moleculares, muitas vezes dispensam procedimentos invasivos, estes devem ser priorizados nos casos em que o sacrifício/coleta do indivíduo possa causar um impacto significativo na população natural já diminuída. Outra prioridade deve ser dada às áreas em Minas Gerais indicadas pelo levantamento feito por coordenação da Biodiversitas (Drummond *et al.*, 2005), com potencial ou alta prioridade para pesquisas científicas. Alguns estudos moleculares indicam que espécimes amostrados em áreas fora da área previamente reconhecida para distribuição da espécie podem revelar grande diversidade críptica (Lacerda *et al.*, 2007; Cabanne *et al.*, 2007). Por isto, expedições-piloto devem ser urgentemente organizadas para estudo detalhado nas áreas prioritárias para pesquisas com poucos estudos taxonômicos e potencial riqueza ou peculiaridade em biodiversidade.

Referências Bibliográficas

- Alcântara, S.F., J. Semir & V.N. Solferini. 2006. Low Genetic Structure in an Epiphytic Orchidaceae (*Oncidium hookeri*) in the Atlantic Rainforest of South-eastern Brazil. *Ann. Bot.* 98:1207-1213.
- Avise, J.C., J. Arnold, R.M. Ball, E. Bermingham, T. Lamb, J.E. Neigel, C.A. Reeb & N.C. Saunders. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 18:489-522.
- Azevedo, C.O., E.L. Borba & C. Van Den Berg. 2006. Evidence for natural hybridization and introgression in *Bulbophyllum involutum* and *B. weddellii* (Orchidaceae) in the Chapada Diamantina, Brazil, by using allozyme markers. *Rev. Bras. Bot.* 29:415-421.
- Azevedo, M.T.A. 2004. *Padrões evolutivos em espécies de Lychnophora Mart. (Asteraceae, Vernoniae) com diferentes amplitudes de distribuição geográfica*. Dissertação de Mestrado. Campinas, Universidade Estadual de Campinas. 105p.
- Azevedo, M.T.A., E.L. Borba, J. Semir & V.N. Solferini. 2007. Very high genetic variability in Neotropical myophilous orchids. *Bot. J. Linn. Soc.* 153:33-40.
- Bonvicino, C.R., I.B. Otazu & P.S. D'Andrea. 2002. Karyologic evidence of diversification of the genus *Thrichomys* (Rodentia, Echimyidae). *Cytogenet. Genome Res.* 97:200-204.
- Borba, E.L., J.M. Felix, J. Semir & V.N. Solferini. 2000. *Pleurothallis fabiobarrosii*, a new Brazilian species: morphological and genetic data with notes on the taxonomy of Brazilian rupicolous *Pleurothallis*. *Lindleyana* 15:2-9.
- Borba, E.L., J.M. Felix, V.N. Solferini & J. Semir. 2001. Fly-pollinated *Pleurothallis* (Orchidaceae) species have high genetic variability: evidence from isozyme markers. *Am. J. Bot.* 88:419-428.
- Borém, A. & F.R. Santos. 2008. *Entendendo a Biotecnologia*. Visconde do Rio Branco: Editora Suprema. 342p.
- Botrel, M.C.G. & D. Carvalho. 2004. Variabilidade isoenzimática em populações naturais de jacarandá paulista (*Machaerium villosum* Vog). *Rev. Bras. Bot.* 27:621-628.
- Botrel, M.C.G., D. Carvalho, A.M. Souza, S.I.C. Pinto, M.C.O. Moura & R.A. Estopa. 2005. Caracterização genética de *Calophyllum brasiliense* Camb em populações de mata ciliar. *Rev. Arvore* 30:821-827.
- Cabanne, G., F.R. Santos & C.Y. Miyaki. 2007. Phylogeography of *Xiphorhynchus fuscus* (Passeriformes: Dendrocolaptidae): vicariance and recent demographic expansion in the southern Atlantic forest. *Biol. J. Linn. Soc. Lond.* 91:73-84.
- Carvalho, D. & A.F. Oliveira. 2005. Genetic structure of *Copaifera langsdorffii* Desf natural populations. *Rev. Cerne* 10:137-153.
- Carvalho, D., A.F. Oliveira & S.C.S. Rosado. 2002. Taxa de cruzamento e sistema reprodutivo de uma população natural de *Copaifera langsdorffii*, na região de Lavras, MG, a partir de isoenzimas. *Rev. Bras. Bot.* 25:331-338.
- Carvalho, D., S. Barreira & M.C.O. Moura. 2008. Genética, Manejo e Conservação. In: J.R. Scolforo (ed.). *Manejo Sustentado da Candeia*. [no prelo]
- Chartone-Souza, E. & Y.X. Sant'ana. 1985. Plasmids that simultaneously carry markers for colicinogeny and resistance to tetracycline in *Salmonella typhimurium*. *Braz. J. Genet.* 8:231-239.
- Chartone-Souza, E. 1975. *Resistência a Drogas e Propriedade Colicinogênica em Escherichia coli*. Dissertação de Mestrado. Belo Horizonte, Universidade Federal de Minas Gerais. 79p.
- Chaves, A.V., C.L. Clozato, D. R. Lacerda, E.R. Sari & F.R. Santos. 2008. Molecular Taxonomy of Brazilian Tyrant-Flycatchers (Passeriformes: Tyrannidae). *Mol. Ecol. Resources*. [no prelo].
- Conceição, A.S., L.P. Queiroz, S.M. Lambert, A.C.S. Pereira & E.L. Borba. 2008. Biosystematics of *Chamaecrista* sect. *Absus* subsect. *Baseophyllum* (Leguminosae-Caesalpinioideae). *Plant Syst. Evol.* 270:183-207.
- Cursino, L., S.M. Oberdá, R.V. Cecílio, R.M. Moreira, E. Chartone-Souza & A.M.A. Nascimento. 1999. Mercury concentration in the sediment at different gold prospecting sites along the Carmo stream, Minas Gerais, Brazil, and frequency of resistant bacteria in the respective aquatic communities. *Hydrobiologia* 394:5-12.
- Dantas, G., F.R. Santos & M. Marini. 2007. Genetic variability of *Conopophaga lineata* (Conopophagidae) in Atlantic Forest fragments. *Braz. J. Biol.* 67:859-865.
- de Moraes, P.L.R. & M.T.C. Derbyshire. 2002. Estrutura genética de populações naturais de *Cryptocarya aschersoniana* Mez (Lauraceae) através de marcadores isoenzimáticos. *Biota Neotropica* 2:183-201.
- de Moraes, P.L.R. & M.T.C. Derbyshire. 2003. Diferenciação genética e diversidade em populações naturais de *Cryptocarya aschersoniana* Mez (Lauraceae). *Biota Neotropica* 3:85-94.
- de Moraes, P.L.R. 2007. *Taxonomy of Cryptocarya species of Brazil*. Brussels: Royal Belgian Institute of Natural Sciences. 191p.
- DeLaat, D.M. 2006. *Variabilidade Genética e Estrutura Populacional de Peripatus acacii na Estação Ecológica do Tripuí, MG*.

- Tese de Doutorado. Belo Horizonte, Universidade Federal de Minas Gerais. 80p.
- DeLaat, D.M., M.R. Carvalho, M.B. Lovato, M.D.P. Acedo & C.G. da Fonseca. 2005. Applicability of RAPD markers on silver-stained polyacrylamide gels to ascertain genetic diversity in *Peripatus acacioi* (Peripatidae, Onychophora). *Genet. Mol. Res.* 4:716-725.
- Dias, I.M.G., G. Amato, M.R.S. Carvalho, H.M. Cunha, A.P. Paglia, R. Desalle & C.G. Fonseca. 2008. Characterization of eight microsatellite loci in the woolly mouse opossum, *Micoureus paraguayanus*, isolated from *Micoureus demerarae*. *Mol. Ecol. Res.* 8:345-347.
- Dos Santos, S.M., C.M. Lopes, J.P. Dujardin, F. Panzera, R. Pérez, A.L. Carbajal de La Fuente, R.S. Pacheco & F. Noireau. 2007. Evolutionary relationships based on genetic and phenetic characters between *Triatoma maculata*, *Triatoma pseudomaculata* and morphologically related species (Reduviidae: Triatominae). *Infect. Genet. Evol.* 7:469-475.
- Drummond, G.M., C.S. Martins, A.B.M. Machado, F.A. Sebaio & Y. Antonini. 2005. *Biodiversidade em Minas Gerais: um atlas para sua conservação*. 2ª ed. Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas. 222p.
- Drummond, G.M., A.B.M. Machado, C.S. Martins, M.P. Mendonça & J.R. Stehmann. 2008. *Listas Vermelhas das Espécies da Fauna e da Flora Ameaçadas de Extinção em Minas Gerais*. 2ª ed. Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas. CD-ROM.
- Elstopa, R.A., D. Carvalho & A.M. Souza. 2006. Diversidade genética em populações naturais de candeia. *Sci. Forestalis* 70:97-106.
- Ferreira, M.E. & D. Grattapaglia. 1995. *Introdução ao Uso de Marcadores Moleculares em Análise Genética*. Brasília: EMBRAPA/CINARGEN. 220p.
- Franceschinelli, E.V., C.M. Jacobi, M.G. Drummond & M.F.S. Resende. 2006. The genetic diversity of two Brazilian *Vellozia* (Velloziaceae) with different patterns of spatial distribution and pollination biology. *Ann. Bot.* 97:585-592.
- Freitas, D.B. 2007. *Prospecção de bactérias em rejeitos de uma indústria de aço*. Tese de Doutorado. Belo Horizonte, Universidade Federal de Minas Gerais.
- Gomes, V., R.G. Collevatti, F.A.O. Silveira & G.W. Fernandes. 2004. The distribution of genetic variability in *Baccharis concinna* (Asteraceae), an endemic, dioecious and threatened shrub of rupestrian fields of Brazil. *Conserv. Genet.* 5:157-165.
- Goulart, M. F., J.P. Lemos Filho & M.B. Lovato. 2005a. Phenological variation within and among populations of *Plathymenia reticulata* in Brazilian Cerrado, Atlantic Forest and transitional sites. *Ann. Bot.* 96:445-455.
- Goulart, M.F., J.P. Lemos Filho & M.B. Lovato. 2006. Variability in fruit and seed morphology among and within populations of *Plathymenia* (Leguminosae - Mimosoideae) in areas of the Cerrado, the Atlantic Forest, and transitional sites. *Plant Biol.* 8:112-119.
- Goulart, M.F., S.P. Ribeiro & M.B. Lovato. 2005b. Genetic, morphological and spatial characterization of two populations of *Mabea fistulifera* Mart. (Euphorbiaceae), in different successional stages. *Braz. Arch. Biol. Tech.* 48:275-284.
- Hadrys, H., M. Balick & B. Schierwater. 1992. Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology. *Mol. Ecol.* 1:55-63.
- Hamrick, J.L. & M.J.W. Godt. 1989. Allozyme diversity in plant species, p.43-63. In: A.H.D. Brown, M.T. Clegg, A.L. Kahler & B.S. Weir (ed.). *Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic Resources*. Sunderland: Sinauer Associates Inc.
- Hebert, P.D.N., A. Cywinska, S.L. Ball & J.R. deWaard. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. Biol. Sci.* B 270:313-321.
- Jaeger, P. & D. Carvalho. 2007. Relação das estimativas genéticas de populações de *Xylopia emarginata* Mart com características químicas do solo. *Rev. Cerne* 13:200-207.
- Jaegler, P., D. Carvalho, M.C.O. Moura & E. Van Den Berg. 2007. Caracterização genética de populações naturais de *Xylopia emarginata* Mart. (Annonaceae). *Sci. Forestalis* 73:91-99.
- Jesus, F.F. 2001. *Variabilidade genética em Proteopsis Mart. & Zucc. e Minasia H. Rob. (Asteraceae: Veroniceae), gêneros endêmicos de campos rupestres*. Dissertação de Mestrado. Campinas, Universidade Estadual de Campinas. 46p.
- Jesus, F.F., V.N. Solferini, J. Semir & P.I.K.L. Prado. 2001. Local genetic differentiation in *Proteopsis argentea* (Asteraceae), a perennial herb endemic in Brazil. *Plant Syst. Evol.* 226:59-68.
- Klaczko, L.B. & R.D. Vieira. 2006. Genética, p.195-225. In: T.M. Lewinsohn (org.). *Avaliação do Estado do Conhecimento da Diversidade Biológica Brasileira 2*. Brasília: Ministério do Meio Ambiente.
- Lacerda, D. R., M.D.P. Acedo, J.P. Lemos Filho & M.B. Lovato. 2002. A técnica de RAPD: uma ferramenta molecular em estudos de conservação de plantas. *Lundiana* 3:87-92.
- Lacerda, D.R. 2004. *Filogeografia comparada e filogenia de espécies de Thamnophilidae (Aves: Passeriformes) e Mata Atlântica de Minas Gerais*. Tese de Doutorado. Belo Horizonte, Universidade Federal de Minas Gerais. 89p.

- Lacerda, D.R., J.P. Lemos Filho, M.D.P. Acedo & M.B. Lovato. 2002. Molecular differentiation of two vicariant neotropical tree species, *Plathymeria foliolosa* and *P. reticulata* (Mimosoideae), inferred using RAPD markers. *Plant Syst. Evol.* 235:67-77.
- Lacerda, D.R., J.P. Lemos Filho, M.F. Goulart, R.A. Ribeiro & M.B. Lovato. 2004. Seed dormancy variation in natural populations of two tropical leguminous tree species: *Senna multijuga* (Caesalpinoideae) and *Plathymeria reticulata* (Mimosoideae). *Seed Sci. Res.* 14:127-135.
- Lacerda, D.R., M. Marini & F.R. Santos. 2007. Mitochondrial DNA corroborates the species distinctiveness of the Planalto (*Thamnophilus pelzelni*) and the Sooretama (*T. ambiguus*) Slaty-antshrikes (Passeriformes: Thamnophilidae). *Braz. J. Biol.* 67:873-882.
- Lacerda, D.R., M.D.P. Acedo, J.P. Lemos Filho & M.B. Lovato. 2001. Genetic diversity and structure of natural populations of *Plathymeria reticulata* (Mimosoideae), a tropical tree from the Brazilian Cerrado. *Mol. Ecol.* 10:1143-1152.
- Lima-Bittencourt, C.I., L. Cursino, H. Goncalves-Dornelas, D.S. Pontes, R.M.D. Nardi, M. Callisto, E. Chartone-Souza & A.M.A. Nascimento. 2007a. Multiple antimicrobial resistance in Enterobacteriaceae isolates from pristine freshwater. *Genet. Mol. Res.* 6:510-521.
- Lima-Bittencourt, C.I., S. Astolfi-Filho, E. Chartone-Souza, F.R. Santos & A.M.A. Nascimento. 2007b. Analysis of *Chromobacterium* sp. natural isolates from different Brazilian ecosystems. *BMC Microbiol.* 7:58.
- Louzada, J.M., E. Bearzoti & D. Carvalho. 2006. Avaliação e aplicação de testes para a detecção da autocorrelação espacial usando marcadores genéticos. *Ciênt. Agrotec.* 30:206-2013.
- Macedo, A.M., M.S. Martins, E. Chiari & S.D. Pena. 1992. DNA fingerprinting of *Trypanosoma cruzi*: a new tool for characterization of strains and clones. *Mol. Biochem. Parasitol.* 55:147-153.
- Maffei, E.M., S.G. Pompolo, J.C. Silva-Junior, A.P. Caixeiro, M.P. Rocha & J.A. Dergam. 2001. Silver staining of nucleolar organizer regions (NOR) in some species of Hymenoptera (bees and parasitic wasp) and Coleoptera (lady-beetle). *Cytobios* 104:119-125.
- Mattos, S.V.M., V. Azevedo, F. Galarza, D.H. Bucker, E. Chartone-Souza & A.M.A. Nascimento. 2000. Capacity of mercury volatilization by mer and glutathione S-transferase genes cloned in *Escherichia coli*. *Sci. Total Environ.* 261:109-113.
- Melo Júnior, A.F., D. Carvalho, J.R. Povoia & E. Bearzoti. 2004. Estrutura genética de populações naturais de pequiheiro (*Caryocar brasiliense* Camb.). *Sci. Florestal* 66:56-65.
- Miyaki, C.Y., J.M.B. Duarte, R. Caparroz, A.L.V. Nunes & A. Wajntal. 1997. Sex identification of Brazilian parrots (Psittacidae, Aves) using the human minisatellite probe 33.15. *Auk* 114:516-520.
- Miyaki, C.Y., O. Hanotte, A. Wajntal & T. Burke. 1992. Sex typing of *Aratinga* parrots using the human minisatellite probe 33.15. *Nucleic Acids Res.* 20:5235-5236.
- Moraes, E.M., A.G. Abreu, S.C.S. Andrade, F.M. Sene & V.N. Solferini. 2005. Genetic variability and population structure of columnar cacti in dry regions of Brazil. *Genetica. Genetica* 125:311-323.
- Mukhopadhyay, J., K. Ghosh, E.F. Rangel & L.E. Munstermann. 1998. Genetic variability in biochemical characters of Brazilian field populations of the Leishmania vector, *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 59:893-901.
- Nascimento, A.M.A., M.O. Azevedo, S. Astolfi-Filho & E. Chartone-Souza. 1992a. Cloning Of The Mercuric Ion-Resistance Operon Into *Escherichia Coli* 5k Using The Mini-Plasmid Technique. *Biotechnol. Tech.* 6:139-142.
- Nascimento, A.M.A., M.O. Azevedo, S. Astolfi-Filho e E. Chartone-Souza. 1992b. Cloning of The Mercuric Ion-Resistance Operon of pBH100 *Escherichia coli* 5k Using Pat153 As Vector. *Rev. Microbiol.* 23:217-220.
- Nascimento, D.G., B. Rates, D.M. Santos, T. Verano-Braga, A. Barbosa-Silva, A.A. Dutra, I. Biondi, M.F. Martin-Eauclaire, M.E. De Lima & A.M. Pimenta. 2006. Moving pieces in a taxonomic puzzle: venom 2D-LC/MS and data clustering analyses to infer phylogenetic relationships in some scorpions from the Buthidae family (Scorpiones). *Toxicon* 47:628-639.
- Nascimento, A.M.A., M.G.L. Brandão, G.B. Oliveira, I.C.P. Fortes & E. Chartone-Souza. 2007. Synergistic bactericidal activity of *Eremanthus erythropappus* oil or beta-bisabolene with ampicillin against *Staphylococcus aureus*. *Antonie van Leeuwenhoek* 92:95-100.
- Pessoa, R.O., G.S. Cabanne, E.H.R. Sari, F.R. Santos & C.Y. Miyaki. 2006. Comparative phylogeography of the Rufous Gnatcatcher (Conopophagidae) and Lesser Woodcreeper (Dendrocolaptidae): Congruent history of two passerines from the south American Atlantic forest. *J. Ornithol.* 147, 227-228.
- Pimenta, R.S., P.D. Alves, A. Corrêa Jr, M.A. Lachance, G.S. Prasad, Rajaram, B.R. Sinha & C.A. Rosa. 2005. *Geotrichum silvicola* sp. nov., a novel asexual arthroconidial yeast species related to the genus *Galactomyces*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55:497-501.
- Pinto, S.I.C. & D. Carvalho. 2004. Estrutura genética de populações de pindaíba (*Xylopia brasiliensis* Springel) por isoenzimas. *Rev. Bras. Bot.* 27:597-605.

- Pinto, S.I.C., D. Carvalho & A.M. Souza. 2004. Variabilidade genética por isoenzimas em populações de *Copaifera langsdorffii* Desf de dois fragmentos de mata ciliar. *Sci. Florestalis* 65:40-78.
- Pontes, D.S., C.I.L. Bittencourt, M.S.P. Azevedo, E. Chartone-Souza & A.M.A. Nascimento. 2007. Phenotypic and genetic analysis of *Enterobacter* spp. from a Brazilian oligotrophic freshwater lake. *Can. J. Microbiol.* 53:983-991.
- Querino, R.B. & R.A. Zucchi. 2002. Intraspecific variation in *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) associated with different hosts. *Braz. J. Biol.* 62:665-679.
- Ramos, A.C.S., J.P. Lemos Filho, R. Acácio, F.R. Santos & M.B. Lovato. 2007. Phylogeography of the tree *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae: Caesalpinioideae) and the influence of Quaternary climate changes in the Brazilian Cerrado. *Ann. Bot.* 100:1-10.
- Redondo, R.A.F. & F.R. Santos. 2006. Evolutionary studies on alpha-amylase gene segment in bats and other mammals. *Genetica* 126:199-213.
- Redondo, R.A.F., R. França-Silva, L.P.S. Brina, A.D. Ditchfield & F.R. Santos. 2008. Molecular Systematics of the Genus *Artibeus* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Mol. Phylogenet. Evol.* submitted.
- Ribeiro, P.L., E.L. Borba, E.C. Smidt, S.M. Lambert, A.S. Schnadelbach & C. Van Den Berg. 2008. Genetic and morphological variation in the *Bulbophyllum exaltatum* (Orchidaceae) complex occurring in the Brazilian campos rupestres: implications for taxonomy and biogeography. *Plant Syst. Evol.* 270:109-137.
- Ribeiro, R.A. & M.B. Lovato. 2004. Mating system parameters in a neotropical tree species, *Senna multijuga* (Fabaceae). *Genet. Mol. Biol.* 27:418-424.
- Ribeiro, R.A., A.C.S. Ramos, J.P. Lemos Filho & M.B. Lovato. 2005. Genetic variation in remnant populations of *Dalbergia nigra* (Papilionoideae), an endangered tree from the Brazilian Atlantic Forest. *Ann. Bot.* 95:1171-1177.
- Ribeiro, R.A., M. Lavin, J.P. Lemos Filho, C.V. Mendonça, F.R. Santos & M.B. Lovato. 2007. The Genus *Machaerium* (Leguminosae) is more closely related to *Aeschynomene* Sect. Ochopodium than to *Dalbergia*: Inferences from combined sequence data. *Syst. Bot.* 32:762-771.
- Rosa, C.A., M.A. Lachance, L.C. Teixeira, R.S. Pimenta & P.B. Morais. 2007. *Metschnikowia cerradonensis* sp. nov., a yeast species isolated from ephemeral flowers and their nitidulid beetles in Brazil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57:161-165.
- Ryder, O.A., A. McLaren, S. Brenner, Z. Ya-Ping & K. Benirschke. 2000. DNA banks for endangered animal species. *Science* 288:275-277.
- Santos, F.R. 2004. Biotecnologia aplicada à preservação de espécies silvestres. *Ação Ambiental* 1:19-22.
- Santos, F.R., D.R. Lacerda & R.A.F. Redondo. 2004. Tecnologias Genômicas na Conservação da Biodiversidade. *Biosc. J.* 20:79-92.
- Santos, F.R., P.E.M. Guimarães & R.A.F. Redondo. 2002. Bancos de DNA: coleções estratégicas para estudos da biodiversidade. *Lundiana* 3:93-98.
- Sheneider, A. E. Gonçalves, J.P. Vasconcelos, E. Franceschinelle, A.Y. Ciampi, P. Rodrigues, L.H.O. Wadt & D. Carvalho. 2003. Genética de Populações Naturais, p.298-315. In: D.M. Rambaldi & D.A.S. Oliveira (org.). *Fragmentação de Ecossistemas: Causas, Efeitos sobre a Biodiversidade e Recomendações de Políticas Públicas*. Brasília: Ministério do Meio Ambiente.
- Silva, M.J. & Y. Yonenaga-Yassuda. 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* 127:217-229.
- Silva, R.M., G.W. Fernandes & M.B. Lovato. 2007. Genetic variation in two *Chamaecrista* species (Leguminosae), one endangered and narrowly distributed and another widespread in the Serra do Espinhaço, Brazil. *Can. J. Bot.* 85:629-636.
- Siqueira, F.F. 2007. *Análise filogenética de minhocoçu Rhinodrilus alatus Righi 1971 (Glossoscholecidae: Annelida) baseada em seqüências do gene de rDNA 5.8S e do espaço interno transcrito (ITS1)*. Monografia de Bacharelado. Belo Horizonte, Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais.
- Souza, A.M., D. Carvalho, F.A. Vieira, L.H. Nascimento & D.C. Lima. 2007. Estrutura genética e espacial de populações naturais de *Calophyllum brasiliense* Camb em mata de galeria. *Rev. Cerne* 13:239-247.
- Teixeira, A.C., M.M. Marini, J.R. Nicoli, Y. Antonini, R.P. Martins, M.A. Lachance & C.A. Rosa. 2003. *Starmerella meliponinorum* sp. nov., a novel ascomycetous yeast species associated with stingless bees. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 53:339-343.
- Vargas, S.M., G.A. Torres, F.S. Sobrinho, A.V. Pereira & L.C. Davide. 2007. Karyotypic studies of *Cratylia argentea* (Desv.) O. Kuntze and *C. mollis* Mart. ex Benth. (Fabaceae - Papilionoideae). *Gen. Mol. Res.* 6:707-712.
- Vidigal, T.H.D., L. Spatz, J.C. Kissinger, R.A.F. Redondo, E.C. Pires, A.J. Simpson & O.S. Carvalho. 2004. Analysis of the first and second internal transcribed spacer sequences of the ribosomal DNA in *Biomphalaria tenagophila* complex (Mollusca: Planorbidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 99:153-158.
- Vieira, F.A. & D. Carvalho. 2008. Genetic structure of an insect-pollinated and bird-dispersed tropical tree in vegetation frag-

ments and corridors: implications for conservation. *Biodivers. Conserv.* [no prelo]

Vilaça, S.T., D.R. Lacerda, E.H.R. Sari & F.R. Santos. 2006. DNA-based identification applied to *Thamnophilidae* (Passeriformes) species: the first barcodes of Neotropical birds. *Ararajuba* 14:7-13.

Warwick, M.C. & G.P. Lewis. 2003. Revision of *Plathymenia* (Leguminosae – Mimosoideae). *Edinb. J. Bot.* 60:111-119.

Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski & S.V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nuc. Acids Res.* 18:6531-6535.

Yazbeck, G.M. & E. Kalapothakis. 2007. Isolation and characterization of microsatellite DNA in the piracema fish *Prochilodus lineatus* (Characiformes). *Gen. Mol. Res.* 6:1026-1034.

Yazbeck, G.M. 2002. *Variabilidade Genética Inter e Intrapopulacional de Akodon cursor (Rodentia: Sigmodontinae) em Ambientes Fragmentados*. Dissertação de Mestrado. Belo Horizonte, Universidade Federal de Minas Gerais. 66p.