

Sandra Vasconcelos Oliveira e Silva

**Mapeamento por hibridização *in situ* dos genes *Lys*
Hsp70 e *Hsp83* nos cromossomos meióticos do gafanhoto
Schistocerca pallens (ACRIDIDAE)**

Recife

2004

**Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas
Departamento de Genética
Programa de Pós-Graduação em Genética**

Sandra Vasconcelos Oliveira e Silva

**Mapeamento por hibridização *in situ* dos genes *Lys*
Hsp70 e *Hsp83* nos cromossomos meióticos do gafanhoto
Schistocerca pallens (ACRIDIDAE)**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação
em Genética do Departamento
de Genética da Universidade
Federal de Pernambuco como
requisito para a obtenção do
grau de Mestre em Genética.

Orientadora: Profa. Dra. Tania Tassinari Rieger

Co-orientador: Prof. Dr. José Ferreira dos Santos

Recife

2004

Mapeamento por hibridização *in situ* dos genes *Lys Hsp70* e *Hsp83* nos cromossomos meióticos do gafanhoto *Schistocerca pallens* (ACRIDIDAE)

Sandra Vasconcelos Oliveira e Silva

Profa. Dra. Tania Tassinari Rieger
Departamento de Genética - UFPE (Orientadora)

COMISSÃO EXAMINADORA

Membros Titulares:

Profa. Dra. Márcia Maria Camargo de Moraes
Departamento de Patologia - UPE

Profa. Dra. Elza Áurea de Luna Alves Lima
Departamento de Micologia - UFPE

Profa. Dra. Maria José de Souza
Departamento de Genética - UFPE

Membros Suplentes:

Profa. Dra. Rosilda dos Santos Silva
Departamento de Genética - UFPE

Profa. Dra. Rita de Cássia de Moura
Departamento de Biologia - UPE

Ao meu esposo e ao meu filho

Agradecimentos

À minha orientadora, Profa. Dra. Tania Tassinari Rieger, que me aceitou no Laboratório de Genética Animal (UFPE) no primeiro momento em que aqui estive e deu-me a oportunidade de chegar onde estou.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. José Ferreira dos Santos, por sua dedicação, paciência e incentivo.

Ao meu marido Moisés, pelo incentivo e compreensão de infinitas horas de ausência do convívio familiar.

Ao meu filho Arthur, minha fonte de inspiração para trilhar os caminhos da vida.

Ao técnico Pedro (UFRPE), pelos inesquecíveis dias de coleta em Pombos (PE), onde obtive as maiores lições de prática que o convívio pode oferecer.

Ao Prof. Álvaro Teixeira (UFRPE), por quem tenho profunda admiração e respeito pelo incentivo em realizar este trabalho.

À Profa. Dra. Maria José de Souza (UFPE), pela cessão de material, pelas sugestões e disponibilidade em me auxiliar.

Ao Prof. Dr. Marcos Morais, pela cessão de material e disponibilidade e competência com que me auxiliou na quantificação do DNA plasmidial.

Agradecimento especial à minha amiga do Laboratório de Genética Animal (UFPE), doutoranda Vilma Loreto, pela bondade e paciência com que tirou minhas dúvidas em citogenética de gafanhotos.

A todos que fazem parte do Laboratório de Genética de Microrganismos (UFPE): Sérgio, Leonardo, Pierre, Hélio, Isis, Luis Rodrigo e outros.

Ao meu amigo João Batista, que me inspirou no apaixonante caminho da Genética.

Ao meu amigo Sérgio Campos, que foi meu professor na preparação de lâminas de *Drosophila*.

Ao meu amigo Léo, que estava sempre pronto a tirar minhas dúvidas.

Aos funcionários do Departamento de Genética, Sr. Humberto, Sra. Wanda, Sta. Flávia e Sr. André, pelo bom atendimento na Secretaria.

À Dra. Rosilda S. Silva (UFPE), pelas muitas e valiosas sugestões de correção do texto.

À Dra. Neide Santos (UFPE), pelo incentivo em realizar este trabalho.

Agradeço aos meus colegas do Laboratório de Genética Animal (UFPE) Ebenézer Bernardes, Marcelle, Danielle, Marilane, Cirlene da Silva e Francisca Tavares por me auxiliarem no uso dos equipamentos do laboratório.

SUMÁRIO

Agradecimentos	v
Lista de figuras	8
Lista de tabelas	9
RESUMO	10
I. INTRODUÇÃO	11
I.1. Objetivo geral	14
II. REVISÃO DA LITERATURA	15
II.1. Pragas de gafanhotos	16
II.2. Características gerais dos gafanhotos	18
II.3. O gafanhoto <i>Schistocerca pallens</i> (Thunberg) sec. Dirsh	20
II.4. Inimigos naturais e controle biológico dos gafanhotos	23
II.5. Resposta imunológica e mecanismo de resistência dos gafanhotos aos microrganismos	24
II.6. Genes de resposta aos estresses	26
II.7. Genética de gafanhotos	28
II.8. Localização de genes por hibridização <i>in situ</i>	31
III. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
IV. ARTIGO	43
Localização dos genes de cópia única <i>Lys</i> , <i>Hsp70</i> e <i>Hsp83</i> por hibridização <i>in situ</i> em cromossomos do gafanhoto <i>Schistocerca pallens</i> (Acrididae, Orthoptera).....	44
V. CONCLUSÕES	63
VI. ABSTRACT	66
VII. ANEXO	67

Lista de figuras

- Figura II.1.** Fotografia de um exemplar macho do gafanhoto *Schistocerca pallens* (fotografia cedida pela Dra. Maria José de Souza UFPE).
..... 21
- Figura 1.** Marcações (setas) por hibridização *in situ* em cromossomos meióticos de *Schistocerca pallens*: localização do gene *Lys* no cromossomo **G**₁ em células na fase de diplóteno (**A**) e metáfase I (**B**), localização do gene *Hsp70* no cromossomo **G**₂ em células em paquíteno (**C**) e metáfase I (**D**), localização do gene *Hsp83* no cromossomo **M**₇ em células em paquíteno (**E**) e metáfase I (**F**). Barra = 1 µm. 52
- Figura 2.** Idiograma do complemento cromossômico meiótico de *Schistocerca pallens* mostrando a localização aproximada dos genes *Lys*, *Hsp70* e *Hsp83* mapeados..... 54
- Figura VII.1.** Metáfase mitótica (**A**) e cariótipo (**B**) de *Schistocerca pallens* (fotografia cedida pela Dra. Maria José de Souza UFPE).
..... 64
- Figura VII. 2.** Mapa do Estado de Pernambuco com a indicação dos locais de coleta (●) dos espécimes de *Schistocerca pallens*. 69

Lista de tabelas

Tabela II.1. Posição taxonômica do gafanhoto <i>Schistocerca pallens</i>	22
Tabela II.2. Número cromossômico e mecanismo de determinação sexual de algumas espécies Neotropicais do gênero <i>Schistocerca</i> (Cyrtacanthacridinae Acrididae).	29
Tabela 1. Número (N) e porcentagem (%) de marcações em cromossomos meióticos do gafanhoto <i>Schistocerca pallens</i> pelas sondas dos genes <i>Lys Hsp70</i> e <i>Hsp83</i> através da técnica de PISH.....	53
Tabela VII.1. Número de espécimes do gafanhoto <i>Schistocerca pallens</i> coletados durante o período de 2001 até 2003 com as coordenadas geográficas dos locais de coleta.....	70

RESUMO

Algumas espécies de gafanhotos são pragas milenares de áreas cultivadas em diversas regiões do mundo, provocando grandes prejuízos econômicos e ecológicos em períodos de explosão populacional. No Brasil, as espécies mais ameaçadoras, que causam danos significativos às lavouras e pastagens, são *Rhammatocerus schistocercoides*, *Stiphra robusta* e *Schistocerca pallens*, nenhuma das quais foi geneticamente bem caracterizada, apesar da grande importância prática. Neste trabalho foi iniciada a caracterização genética de *S. pallens*, através da localização por hibridização *in situ* dos genes *Lys*, *Hsp70* e *Hsp83* em cromossomos meióticos. Aproximadamente 700 núcleos foram analisados para os três genes e o percentual médio de marcação foi de 68,49%. Após análise de 108 núcleos marcados, com uma frequência de 94,44% o gene *Lys* foi mapeado no cromossomo **G**₁. O gene *Hsp70* foi mapeado no cromossomo **G**₂, onde foram observadas 89,94% das marcações do total de 199 núcleos marcados. Para o loco *Hsp83* foram contados 163 núcleos marcados, dos quais 97,54% das marcações foram localizadas em um cromossomo médio identificado como **M**₇. Para todos os genes hibridizados outras marcações foram observadas, mas todas em frequências inferiores a 30%. Estes são os primeiros genes mapeados em *S. pallens*, sendo também os primeiros genes de cópia única mapeados na família Acrididae. Além de servir como novos marcadores para individualização cromossômica, os dados da localização destes genes poderão ser úteis como marcas físicas para um eventual programa de seqüenciamento genômico da espécie.