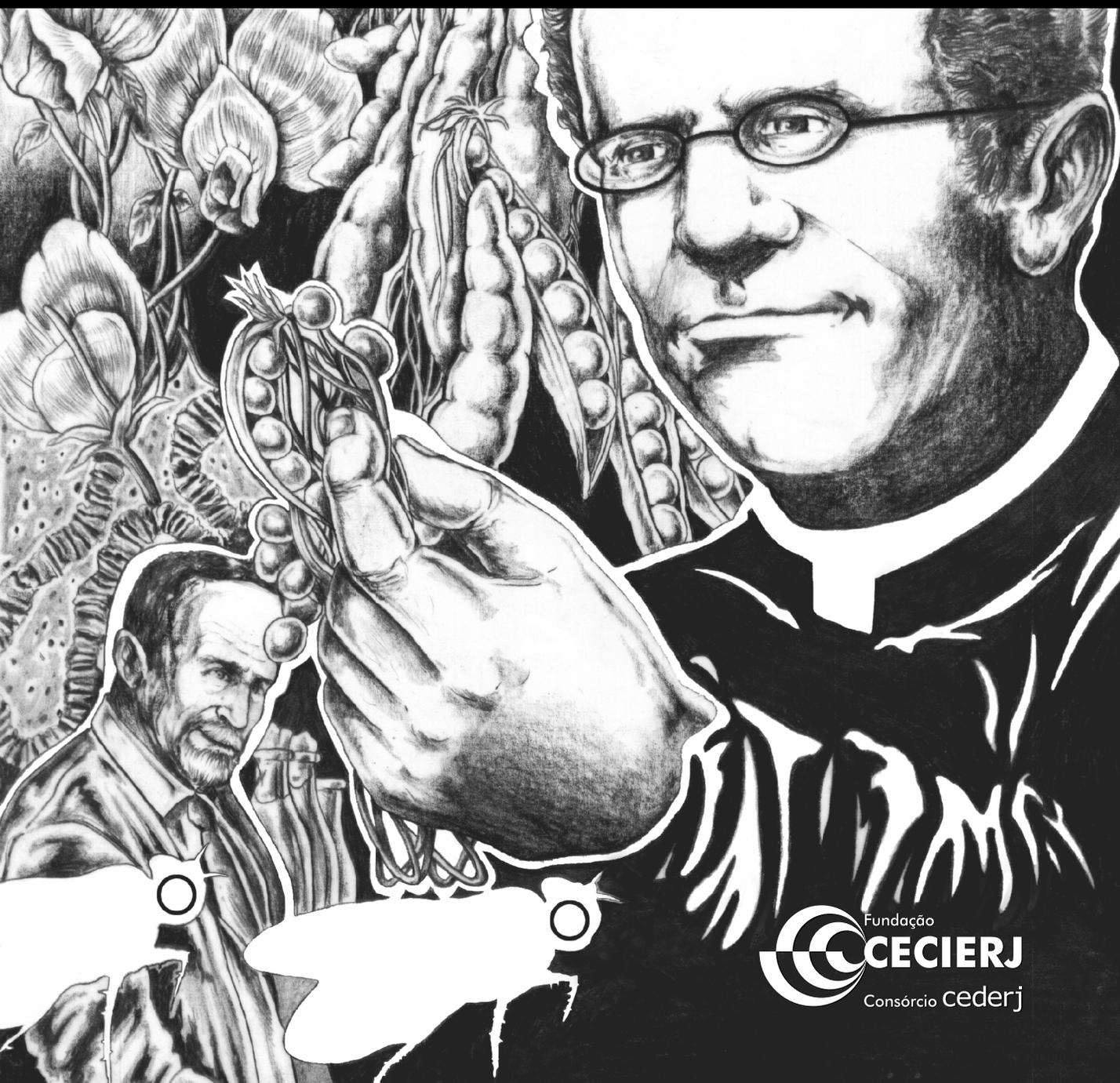


Blanche Christine Bitner-Mathé  
Bruna Palma Matta  
Patrick Goltsman Moreno

Genética Básica







Fundação

**CECIERJ**

Consórcio **cederj**

Centro de Educação Superior a Distância do Estado do Rio de Janeiro

## Genética Básica

Volume 2 - Módulo 2

Blanche Christine Bitner-Mathé

Bruna Palma Matta

Patrick Goltsman Moreno



**GOVERNO DO  
Rio de Janeiro**

**SECRETARIA DE CIÊNCIA,  
TECNOLOGIA, INOVAÇÃO E  
DESENVOLVIMENTO SOCIAL**

**UNIVERSIDADE  
ABERTA DO BRASIL**

**MINISTÉRIO DA  
EDUCAÇÃO**



Apoio:



**FAPERJ**  
Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo  
à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro

# Fundação Cecierj / Consórcio Cederj

www.cederj.edu.br

## Presidente

Carlos Eduardo Bielschowsky

## Vice-presidente

Marilvia Dansa de Alencar

## Coordenação do Curso de Biologia

UENF – Marilvia Dansa de Alencar Petretski  
UERJ – Celly Cristina Alves do Nascimento Saba  
UFRJ – Benedita Aglai Oliveira da Silva

## Material Didático

### ELABORAÇÃO DE CONTEÚDO

Blanche Christine Bitner-Mathé  
Bruna Palma Matta  
Patrick Goltsman Moreno

### COORDENAÇÃO DE DESENVOLVIMENTO INSTRUCIONAL

Cristine Costa Barreto

### DESENVOLVIMENTO INSTRUCIONAL E REVISÃO

Alexandre Rodrigues Alves  
Márcia Elisa Rendeiro

### COORDENAÇÃO DE LINGUAGEM

Maria Angélica Alves

### REVISÃO TÉCNICA

Marta Abdala

## Departamento de Produção

### EDITORA

Tereza Queiroz

### COORDENAÇÃO EDITORIAL

Jane Castellani

### REVISÃO TIPOGRÁFICA

Jane Castellani  
Raquel Queiroz  
Sandra Valéria Ferreira de  
Oliveira

### COORDENAÇÃO DE PRODUÇÃO

Jorge Moura

### PROGRAMAÇÃO VISUAL

Fábio Guimarães

### ILUSTRAÇÃO

Eduardo Bordoni  
Fabiana Rocha  
Jefferson Caçador

### CAPA

Eduardo Bordoni

### PRODUÇÃO GRÁFICA

Verônica Paranhos

Copyright © 2005, Fundação Cecierj / Consórcio Cederj

Nenhuma parte deste material poderá ser reproduzida, transmitida e gravada, por qualquer meio eletrônico, mecânico, por fotocópia e outros, sem a prévia autorização, por escrito, da Fundação.

B624g

Bitner-Mathé, Blanche C.

Genética Básica: v. 2 / Blanche C. Bitner-Mathé. -- Rio de Janeiro: Fundação CECIERJ, 2005.

238p.; 19 x 26,5 cm.

ISBN: 85-7648-063-8

1. Cromossomos. 2. Divisão celular. 3. Mendelismo.  
4. Genética humana. I. Matta, Bruna P. II. Moreno,  
Patrick Goltsman. III. Título.

CDD: 576.5

# Governo do Estado do Rio de Janeiro

## Governador

Luiz Fernando de Souza Pezão

## Secretário de Estado de Ciência, Tecnologia, Inovação e Desenvolvimento Social

Gabriell Carvalho Neves Franco dos Santos

### Universidades Consorciadas

**CEFET/RJ - CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO  
TECNOLÓGICA CELSO SUCKOW DA FONSECA**  
Diretor-geral: Carlos Henrique Figueiredo Alves

**FAETEC - FUNDAÇÃO DE APOIO  
À ESCOLA TÉCNICA**  
Presidente: Alexandre Sérgio Alves Vieira

**IFF - INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO,  
CIÊNCIA E TECNOLOGIA FLUMINENSE**  
Reitor: Jefferson Manhães de Azevedo

**UENF - UNIVERSIDADE ESTADUAL  
DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO**  
Reitor: Luis César Passoni

**UERJ - UNIVERSIDADE DO ESTADO  
DO RIO DE JANEIRO**  
Reitor: Ruy Garcia Marques

**UFF - UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE**  
Reitor: Sidney Luiz de Matos Mello

**UFRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
RIO DE JANEIRO**  
Reitor: Roberto Leher

**UFRRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL  
DO RIO DE JANEIRO**  
Reitor: Ricardo Luiz Louro Berbara

**UNIRIO - UNIVERSIDADE FEDERAL  
DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO**  
Reitor: Luiz Pedro San Gil Jutuca



**SUMÁRIO**

<b>Aula 11</b> – Casos especiais da expressão da herança monogênica _____	<b>7</b>
<i>Patrick Goltsman Moreno</i>	
<b>Aula 12</b> – Herança extranuclear _____	<b>27</b>
<i>Patrick Goltsman Moreno</i>	
<b>Aula 13</b> – Genes ligados _____	<b>41</b>
<i>Blanche Christine Bitner-Mathé</i>	
<b>Aula 14</b> – Mapeamento cromossômico _____	<b>71</b>
<i>Blanche Christine Bitner-Mathé</i>	
<b>Aula 15</b> – As interações entre genes na determinação de uma característica _____	<b>97</b>
<i>Blanche Christine Bitner-Mathé</i>	
<b>Aula 16</b> – Introdução à Genética Quantitativa: análise de características contínuas _____	<b>115</b>
<i>Blanche Christine Bitner-Mathé</i>	
<b>Aula 17</b> – Introdução à Genética Quantitativa: os componentes da variação fenotípica _____	<b>135</b>
<i>Blanche Christine Bitner-Mathé</i>	
<b>Aula 18</b> – Observações sobre as variações no número de cromossomos das espécies _____	<b>157</b>
<i>Patrick Goltsman Moreno</i>	
<b>Aula 19</b> – Alterações na estrutura dos cromossomos _____	<b>177</b>
<i>Patrick Goltsman Moreno</i>	
<b>Aula 20</b> – Prática de observação de cromossomos politênicos em larvas de <i>Drosophila</i> _____	<b>197</b>
<i>Blanche Christine Bitner-Mathé</i>	
<b>Gabarito</b> _____	<b>205</b>
<b>Referências</b> _____	<b>235</b>



# Casos especiais da expressão da herança monogênica

# AULA 11

## objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Compreender alguns casos especiais da herança monogênica.
- Reconhecer padrões de herança diferentes dos propostos por Mendel.

### Pré-requisitos

Divisão celular e teoria cromossômica da herança.  
Cromossomos sexuais.  
Genética humana e análise de heredogramas.

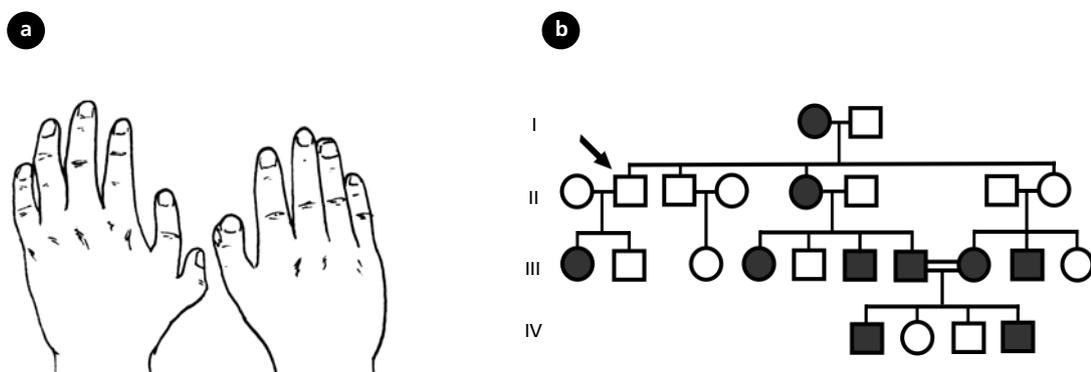
## INTRODUÇÃO

Nos cruzamentos que temos analisado até aqui, observamos que todos os indivíduos com o mesmo genótipo possuem o mesmo fenótipo. Mas esse não é o caso para todas as mutações. Nesta aula, discutiremos alguns exemplos de características monogênicas que apresentam modificações de sua expressão e/ou de seu padrão de transmissão.

## PENETRÂNCIA E EXPRESSIVIDADE

Até agora, nós analisamos casos em que podíamos distinguir os genótipos selvagens e mutantes com 100% de precisão. Nestes casos, dizemos que a mutação é 100% penetrante. Entretanto, muitas mutações possuem penetrância incompleta, que ocorre quando os indivíduos não apresentam uma característica mesmo tendo o genótipo apropriado. Desta forma, podemos definir a **penetrância** como a **porcentagem de indivíduos com um determinado genótipo que exibem o fenótipo associado a esse genótipo**. Um organismo pode ter um genótipo em particular mas não expressar o fenótipo correspondente devido a genes modificadores, epistáticos ou supressores no resto do genoma, ou devido a um efeito modificador do ambiente.

Um exemplo de penetrância incompleta em humanos é a polidactilia (presença de dedos e artelhos adicionais). Essa condição ocorre devido a uma mutação dominante que se manifesta em alguns de seus portadores. Observe o heredograma na **Figura 11.1**. Há uma forte evidência de que o indivíduo em questão, o homem II-2, seja portador do alelo dominante que causa essa condição, embora ele não apresente o fenótipo característico. Podemos afirmar isso pelo fato de que tanto sua mãe como um de seus filhos e três de suas irmãs possuem polidactilia.



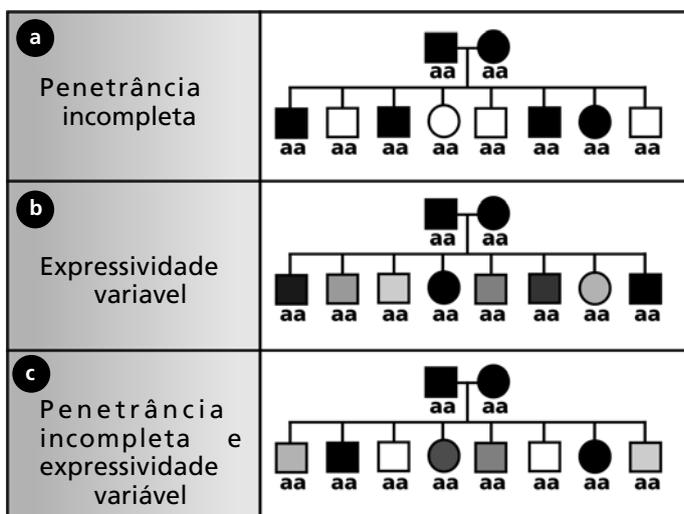
**Figura 11.1:** Polidactilia em seres humanos. a) foto mostrando o fenótipo de um indivíduo afetado. b) heredograma mostrando a penetrância incompleta na transmissão dessa característica autossômica dominante (os símbolos em escuro representam os indivíduos afetados e a seta indica o indivíduo citado no texto).

Já a expressividade mede a extensão na qual um determinado genótipo é expresso fenotipicamente. Dessa forma, indivíduos com o mesmo genótipo podem ter seu fenótipo expresso em diferentes graus. Essa diferença na expressão fenotípica também pode ser devida a fatores ambientais ou variação da composição do resto do genoma. Um exemplo de expressividade variável é a mutação dominante do olho *Lobe* em *Drosophila* (Figura 11.2). Podemos perceber que, apesar de todos os indivíduos terem o mesmo genótipo, sendo heterozigotos, o fenótipo associado a essa mutação é extremamente variável – desde moscas que apresentam olhos muito pequenos até moscas que apresentam olhos grandes lobulados.



**Figura 11.2:** Expressividade variável da mutação *Lobe* em *Drosophila*. Cada indivíduo é heterozigoto para esta mutação dominante. Observe a variação na forma dos olhos.

Para entender melhor os conceitos de penetrância incompleta e expressividade variável, observe o esquema na Figura 11.3. Note que, considerando que todos os indivíduos apresentam o mesmo genótipo, o conceito de penetrância está relacionado à presença ou ausência do fenótipo correspondente, enquanto o de expressividade está relacionado à variação do fenótipo.



**Figura 11.3:** Efeitos de penetrância incompleta e expressividade variável em uma característica hipotética. a) penetrância incompleta: indivíduos com o mesmo genótipo podem apresentar (em preto) ou não apresentar (em branco) o fenótipo característico; b) expressividade variável: todos os indivíduos com o mesmo genótipo apresentam o fenótipo, embora o grau de expressão (em tons de cinza e em preto) possa variar; c) penetrância incompleta e expressividade variável: indivíduos com o mesmo genótipo podem apresentar ou não apresentar o fenótipo característico e, quando apresentam, nem sempre é em seu grau máximo de expressão.

## IMPRINTING PARENTAL

Estudos recentes demonstram que, para alguns genes autossômicos, o postulado da contribuição eqüitativa dos progenitores não se aplica. Isso porque para alguns genes observa-se que apenas um dos alelos, paterno ou materno, é normalmente expresso, fenômeno conhecido como **IMPRINTING** parental.

### IMPRINTING

O termo *imprinting* é utilizado por transmitir a idéia de que o gene foi marcado de algum modo, de forma que possa ser identificado o seu progenitor de origem.

Assim, o **imprinting** parental, descoberto no início da década de 1980 em mamíferos, consiste num **tipo de herança em que a expressão de um gene é controlado por sua origem parental**. Por exemplo, o gene *Igf2*, que codifica um fator de crescimento semelhante à insulina, em camundongos, expressa somente o alelo herdado do pai, mas não o da mãe. Dizemos, então, que esse gene sofreu *imprinting* materno, sendo a cópia do gene derivada da mãe inativa. Contrariamente, o gene *H19* de camundongo só expressa o alelo herdado da mãe, mas não o do pai. Isto devido ao gene ter sofrido *imprinting* paterno.

Quando os alelos desses genes são analisados em nível molecular, observa-se que as únicas mudanças observadas entre o alelo ativo e o inativo são grupos metila ( $\text{CH}_3$ ) extras presentes em algumas bases do DNA do gene que sofreu o *imprinting*. Esses grupos metila são adicionados e removidos enzimaticamente às bases do DNA da maioria dos organismos superiores, sendo a *Drosophila* uma exceção. O nível de metilação normalmente está relacionado ao **ESTADO TRANSCRICIONAL** de um gene: genes ativos são menos metilados do que genes inativos.

### ESTADO TRANSCRICIONAL

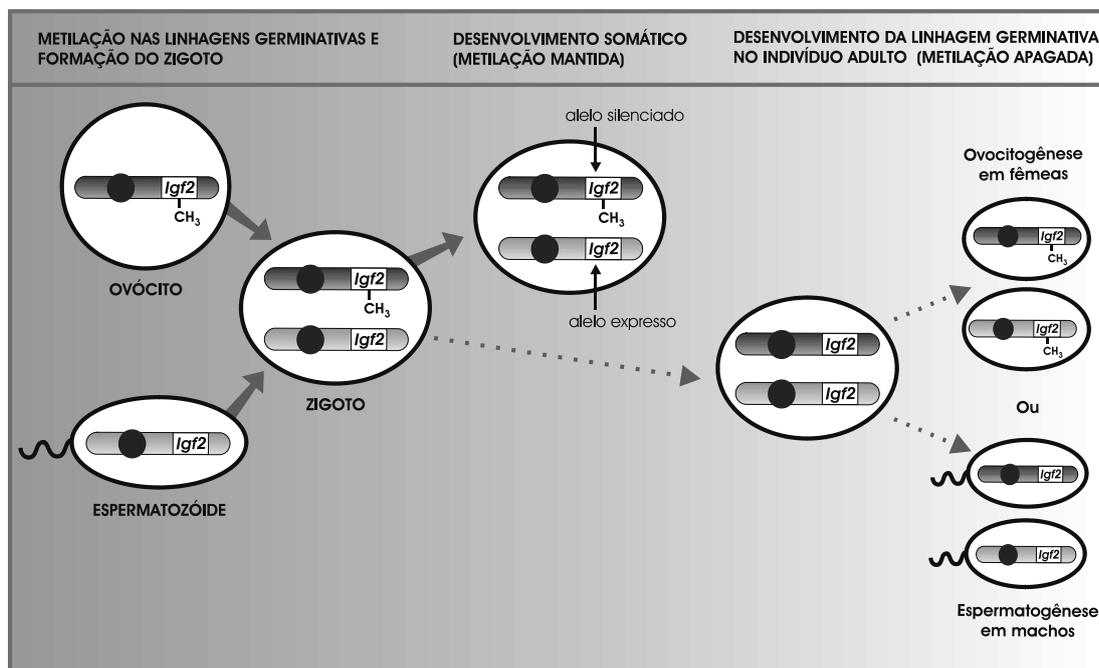
O estado transcricional está relacionado com o processo de ativação e inativação de um determinado gene. Em genes ativos o processo de transcrição ocorre normalmente, enquanto em genes inativos este processo é bloqueado.



Você pode aprofundar seus conhecimentos sobre os processos de metilação do DNA durante as aulas de Biologia Molecular.

Vamos tomar como exemplo o gene *Igf2* em camundongos. Esse gene é metilado na linhagem germinativa feminina, mas não na linhagem germinativa masculina (Figura 11.4). Na fertilização, o zigoto recebe um alelo do gene *Igf2* metilado, doado pela mãe, e um alelo não metilado doado pelo pai. Durante o desenvolvimento embrionário, os estados metilados e não metilados são mantidos em todas as células somáticas. Entretanto, nas células da linhagem germinativa do novo indivíduo, o *imprinting* é desfeito. Ou seja, nessas células, as duas cópias do gene estarão desmetiladas até que a gametogênese tenha início. A partir daí, um novo processo de metilação pode ou não ocorrer, dependendo do sexo do indivíduo. No caso do gene *Igf2*, se o indivíduo for uma fêmea, todos os seus ovócitos portarão o alelo metilado. Mas, se o indivíduo for um macho, a espermatogênese dará origem a espermatozoides portando o alelo não metilado para esse gene (Figura 11.4). Assim, o processo de metilação é refeito a cada geração. Esse fato sugere a existência de fatores específicos do sexo que controlam a maquinaria de metilação.

**Figura 11.4:** Metilação e *imprinting* do gene *Igf2* em camundongos. O gene é metilado na linhagem germinativa das fêmeas, mas não na dos machos.



O alelo do gene *Igf2* é metilado na linhagem germinativa feminina (sofre *imprinting*, recebendo o grupo metila - CH<sub>3</sub>) e não-metilado na linhagem germinativa masculina. O desenvolvimento do zigoto dá origem aos tecidos que formam o indivíduo adulto.

A metilação é mantida durante o desenvolvimento dos tecidos somáticos: o alelo herdado maternalmente permanece metilado e não se expressa nas células somáticas, enquanto que o alelo herdado paternalmente permanece não-metilado e é expresso.

A metilação é “apagada” durante o desenvolvimento dos tecidos germinativos, sendo reestabelecidas durante a ovocitogênese, mas não durante a espermatogênese. Isto é, se o indivíduo for uma fêmea, todos os alelos do gene *Igf2* serão metilados durante a ovocitogênese, mas se o indivíduo for um macho, nenhum dos alelos será metilado durante a espermatogênese, mesmo sendo cópias do alelo metilado herdado maternalmente.

A consequência do *imprinting* parental é que, mesmo havendo duas cópias de cada um destes genes em cada célula, apenas uma das cópias é expressa, como nos indivíduos hemizigóticos. Mais ainda, dependendo do gene em questão, a cópia inativada pode ser a de origem paterna ou materna. Atualmente, já foram identificados mais de 20 genes humanos que sofrem o processo de *imprinting* parental, desde fatores de crescimento a RNA não traduzidos, e acredita-se que possam existir centenas destes genes entre os, aproximadamente, 30.000 genes que a espécie humana possui.

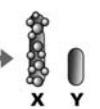
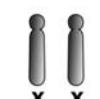
Um exemplo interessante das consequências do *imprinting* genômico na espécie humana é o caso das síndromes de Prader-Willi e Angelman. Apesar de a incidência dessas síndromes ser relativamente baixa, nos últimos anos elas tornaram-se objeto de estudo intensivo, por se constituírem em exemplos do fenômeno de *imprinting* genômico. Essas síndromes constituem patologias clinicamente distintas, embora ambas ocorram por perda de função de genes na região 15q11-q13 do cromossomo 15. Dentro dessa região, vários genes são ativos apenas no cromossomo herdado do pai, enquanto outros são ativos apenas no cromossomo herdado da mãe. Portanto, se um indivíduo possuir um dos cromossomos do par 15 com uma deleção nessa região, ele apresentará ou a síndrome de Prader-Willi ou de Angelman, dependendo da origem paterna ou materna do cromossomo deletado.

## COMPENSAÇÃO EM GENES LIGADOS AO CROMOSSOMO X

O desenvolvimento animal geralmente é sensível a um desequilíbrio do número de genes. Normalmente, nos animais encontramos cada gene em duas cópias homólogas. Nos casos em que ocorrem desvios dessa condição, seja para mais ou para menos, são observados fenótipos anormais que podem até levar o indivíduo à morte. Porém, muitas espécies possuem um sistema de determinação sexual com fêmeas apresentando dois cromossomos X e machos com apenas um. Podemos esperar, então, que essas fêmeas possuam duas vezes o número de cópias de genes ligados ao cromossomo X se comparadas aos machos. Entretanto, por muitos anos os geneticistas haviam observado que, em muitos casos, fêmeas homozigóticas para genes dos cromossomos X não expressam a característica mais intensamente do que os machos hemizigóticos. Portanto, deveria haver algum **mecanismo de compensação de dose**, através do qual **a dose efetiva dos genes seria igualada nos dois sexos**. Dois mecanismos poderiam explicar essa diferença: (1) cada gene ligado ao cromossomo X funciona duas vezes mais em machos do que em fêmeas, ou (2) uma cópia de cada gene ligado ao X é inativada nas fêmeas. Mas qual desses dois mecanismos realmente atua no processo? Várias pesquisas mostraram que ambos são possíveis e que espécies diferentes podem apresentar estratégias diferentes de compensação de dose.

### Hiperativação de genes ligados ao cromossomo X em *Drosophila*

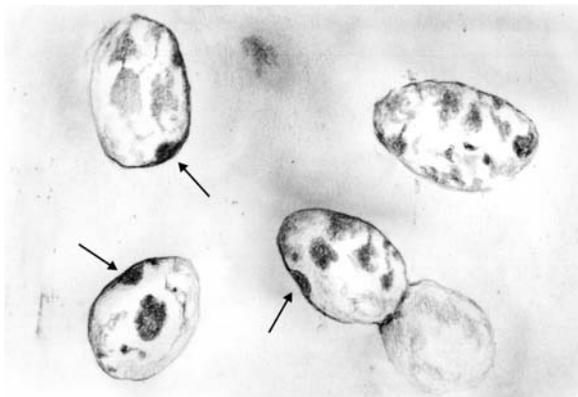
Em *Drosophila*, a compensação de dose de genes ligados ao X é obtida pelo aumento na atividade desses genes nos machos. Esse fenômeno, chamado *hiperativação*, envolve um gene chamado *letal sexual* (*Sxl*). Este gene encontra-se na forma ativa nas fêmeas e inativa nos machos. Quando seu produto gênico está ausente, como nos machos, um complexo protéico se liga a alguns sítios do cromossomo X, ativando a duplicação da atividade gênica. Quando o produto do gene *Sxl* está presente, como nas fêmeas, este complexo protéico não se liga, e a hiperativação dos genes presentes no cromossomo X não ocorre (Figura 11.5). Dessa forma, a atividade dos genes ligados ao X em machos e fêmeas de *Drosophila* é aproximadamente a mesma.

Genótipo	Proporção X:A	Gene <i>Sxl</i>	Expressão dos genes ligados ao X
<b>Macho</b> XY AA	<b>0,5</b>	<b>Desligado:</b> complexo protéico se liga ao cromossomo X	 Aumento da expressão dos genes ligados ao cromossomo X.
<b>Fêmea</b> XX AA	<b>1,0</b>	<b>Ligado:</b> complexo protéico não se liga ao cromossomo X	 Sem aumento da expressão dos genes ligados aos cromossomos X.

**Figura 11.5:** Hiperativação do cromossomo X em *Drosophila*. O conjunto haplóide de cromossomos autossômicos está representado pela letra A. Reveja o sistema de determinação do sexo em *Drosophila* no Quadro 6.3 da Aula 6.

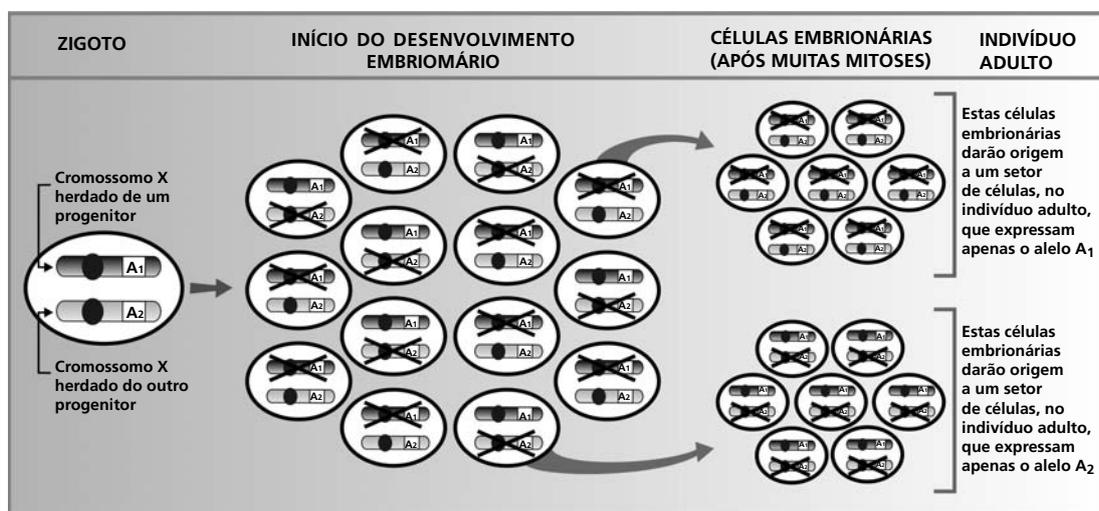
### Inativação de genes ligados ao cromossomo X em mamíferos

Em 1960, Murray L. Barr observou corpúsculos cromáticos em células nervosas de gatos fêmeas, mas que eram ausentes nas células dos machos. Barr e alguns colaboradores também identificaram esses corpúsculos na espécie humana, nos núcleos das células de vários tecidos, inclusive no epitélio bucal. Essa estrutura passou a ser conhecida como corpúsculo de Barr ou cromatina sexual, e demonstrou ser característica das células de fêmeas de todos os mamíferos (Figura 11.6). Esse corpúsculo fica ligado à face interna da membrana nuclear, onde se replica em momento diferente do momento dos demais cromossomos da célula. Vários pesquisadores propuseram que a cromatina sexual e a compensação de dose nos mamíferos seriam condicionadas pela inativação de um cromossomo X na fêmea normal. Entre eles estava Mary F. Lyon, que, em 1968, formalizou essa hipótese a partir de observações citológicas e estudos genéticos sobre a cor da pelagem em camundongos.



**Figura 11.6:** Corpúsculo de Barr (apontados pelas setas) no núcleo de células femininas.

No início do desenvolvimento de fêmeas de mamíferos, um dos cromossomos X em cada célula fica inativado, tornando-se altamente condensado e visível como um ponto de coloração escura (corpúsculo de Barr). Essa inativação cromossômica é aleatória. Em cada célula do embrião, um ou outro X pode ser inativado mas, uma vez definido, o X inativado persiste em todas as células descendentes. Assim, as fêmeas de mamíferos são mosaicos genéticos contendo dois tipos celulares: as células com o cromossomo X de origem materna inativado e as células com o cromossomo X de origem paterna inativado. Considerando-se que a inativação é ao acaso, espera-se que metade das células inative um dos cromossomos X e a outra metade inative o outro cromossomo. Mas também é possível que, por acaso, um dos cromossomos seja inativado num maior número de células do que o outro.



Um dos cromossomos X é inativado em processo aleatório, durante as primeiras divisões mitóticas.

Uma vez definido qual cromossomo X deve ser inativado, as células descendentes seguirão o mesmo padrão de inativação.

**Figura 11.7:** Inativação do cromossomo X em mamíferos.

Um dos exemplos que permite visualizar este *mosaicismo fenotípico* é o da coloração do pêlo em gatos. Nessa espécie, o cromossomo X porta um dos genes responsáveis pelo padrão de pelagem. As fêmeas heterozigóticas para esse gene ( $X^O X^o$ ) mostram placas de pêlos cor laranja e não-laranja (Figura 11.7). As placas não-laranja expressam o alelo *o* e as laranjas o alelo *O*. Esse fenótipo em mosaico é chamado de casco-de-tartaruga (do inglês *tortoise-shell*). Cada placa de pêlos define um clone de células que foram derivadas, por mitose, de uma célula precursora onde um ou outro cromossomo X foi inativado no início do desenvolvimento embrionário da fêmea heterozigótica (Figura 11.8).



**Figura 11.8:** Determinação do padrão de pelagem em gatas heterozigóticas para um gene ligado ao cromossomo X. O mosaico de cores (laranja e não-laranja) é resultado da inativação aleatória do cromossomo X nas células embrionárias, no início do desenvolvimento do indivíduo.

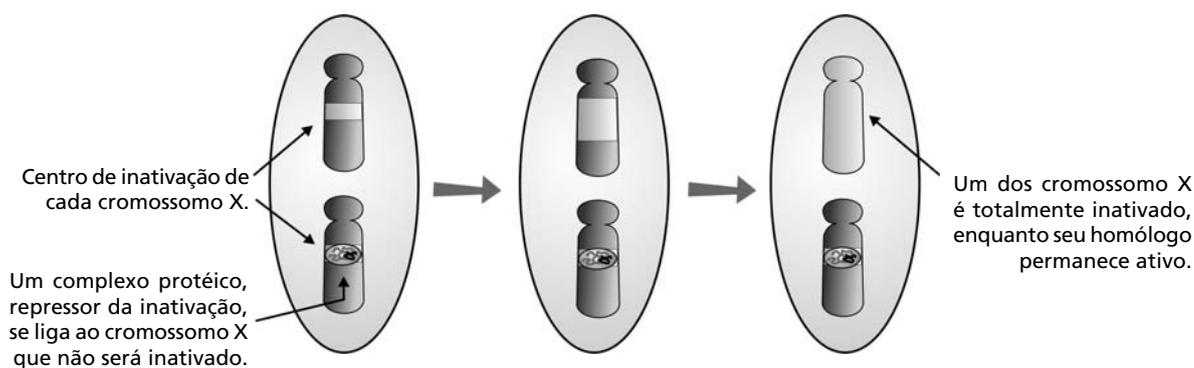
**!** O padrão de determinação da cor da pelagem em gatos é complexo e envolve a interação de vários genes. Alguns desses genes estão ligados ao cromossomo X, como no exemplo do gene que determina a formação de setores laranja e não-laranja na pelagem. Outros genes, no entanto, são autossômicos, como um gene que determina a cor branca na pelagem.

Na espécie humana, embora todas as mulheres tenham um de seus cromossomos X inativados em cada célula, esta inativação é detectável apenas quando uma mulher é heterozigota para um gene ligado ao X. Essa condição é particularmente marcante quando, como no gato *tortoise-shell*, o fenótipo é expresso no exterior do corpo. Um exemplo amplamente conhecido é a displasia ectodérmica anidrótica. Os homens portadores do alelo responsável em sua condição hemizigótica não têm glândulas sudoríparas. Uma mulher heterozigótica tem um mosaico de setores com e sem glândulas sudoríparas pelo corpo, como mostrado na **Figura 11.9**.



**Figura 11.9:** Mosaicismo somático em mulheres heterozigóticas para a displasia ectodérmica anidrótica. As áreas sem glândulas sudoríparas são mostradas em escuro.

Os mecanismos moleculares que causam a inativação do cromossomo X ainda são pouco conhecidos. A análise genética demonstrou que tanto em humanos quanto em camundongos ela começa em um ponto do braço longo do cromossomo X e se espalha em ambos os sentidos para as pontas dos cromossomos (**Figura 11.10**). O local onde o processo se inicia é chamado centro de inativação do X (XIC). O cromossomo X permanece na forma de corpúsculo de Barr em todos os tecidos somáticos. Entretanto, nos tecidos germinativos ele é reativado, provavelmente pela necessidade de duas cópias de alguns genes para o término bem-sucedido da oocitogênese.



**Figura 11.10:** mecanismo molecular da inativação do cromossomo X. A inativação se espalha a partir do centro de inativação do cromossomo que não recebeu o complexo protéico repressor.

## MANIFESTAÇÃO TARDIA

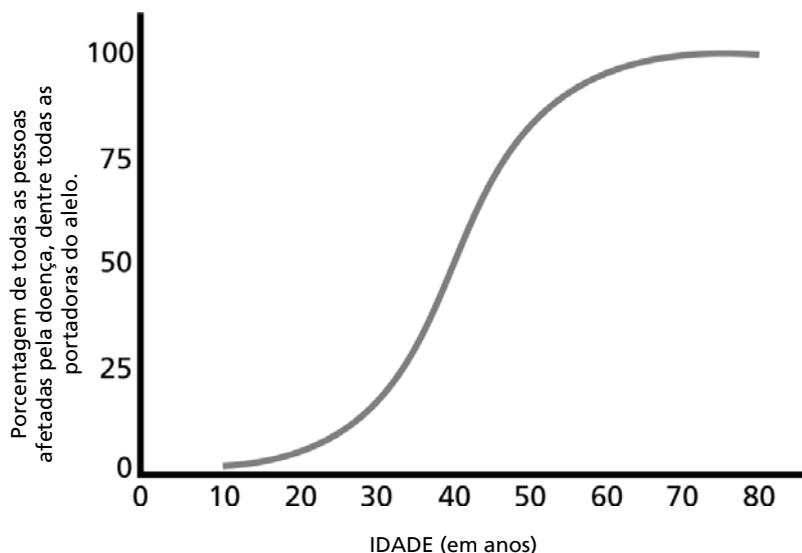
Existem casos em que a **manifestação de uma mutação só ocorre em idades avançadas**; nesses casos dizemos que há **manifestação tardia**. Na espécie humana, as doenças de Parkinson, Alzheimer e Huntington são exemplos de mutações com manifestação tardia. Vamos ver com mais detalhes o caso da doença de Huntington.

### Doença de Huntington

#### CORÉIA

Originada da palavra grega para “dança”, coréia se refere aos movimentos involuntários que estão entre os sintomas comuns da doença de Huntington.

A doença de Huntington, muitas vezes chamada de **CORÉIA** de Huntington, foi descrita pela primeira vez por Huntington em 1872, em uma família americana de descendência inglesa. O gene para a doença parece ter-se difundido do noroeste da Europa para todo o mundo. A doença de Huntington é um distúrbio autossômico dominante, que apresenta um padrão genético complexo pelo início tardio e pouco variável da manifestação do processo. O paciente afetado apresenta degeneração neural causada pela perda marcante de células cerebrais, levando à convulsão e morte prematura. Esse dano afeta a capacidade cognitiva (pensamento, julgamento, memória), movimentos e equilíbrio emocional. Os sintomas aparecem gradualmente, em geral entre as idades de 30 e 50 anos (**Figura 11.11**). Entretanto, devido a sua manifestação tardia, os sintomas normalmente aparecem depois que a pessoa teve filhos.



**Figura 11.11:** Variação na idade de manifestação dos sintomas da doença de Huntington em indivíduos afetados.

De forma semelhante às demais condições dominantes, cada filho de um portador do alelo anormal tem 50% de chances de apresentar a doença. Esse padrão levou a uma grande busca para encontrar meios de identificar pessoas que têm o alelo anormal antes do início da manifestação da doença. A aplicação de técnicas moleculares tem resultado em um promissor procedimento de triagem. Assim, o gene cujo alelo mutante causa a doença de Huntington (HD) foi isolado em 1993, e seu produto protéico, a *huntingtina*, foi identificado. No entanto, uma vez que a função desse gene da doença seja totalmente compreendida, ainda poderá haver um longo tempo até que uma terapia efetiva para a doença de Huntington seja estabelecida.

## ANTECIPAÇÃO GENÉTICA

Uma outra característica de algumas mutações é apresentar o fenômeno de **antecipação genética**. O conceito de antecipação já era popular entre os médicos no século XIX. Eles observavam que **algumas doenças hereditárias começam mais cedo e seguem um curso mais grave à medida que passam através das gerações**: o avô parecia ser menos gravemente afetado; o pai já apresentava sintomas mais graves e no filho a doença se expressava com toda força.

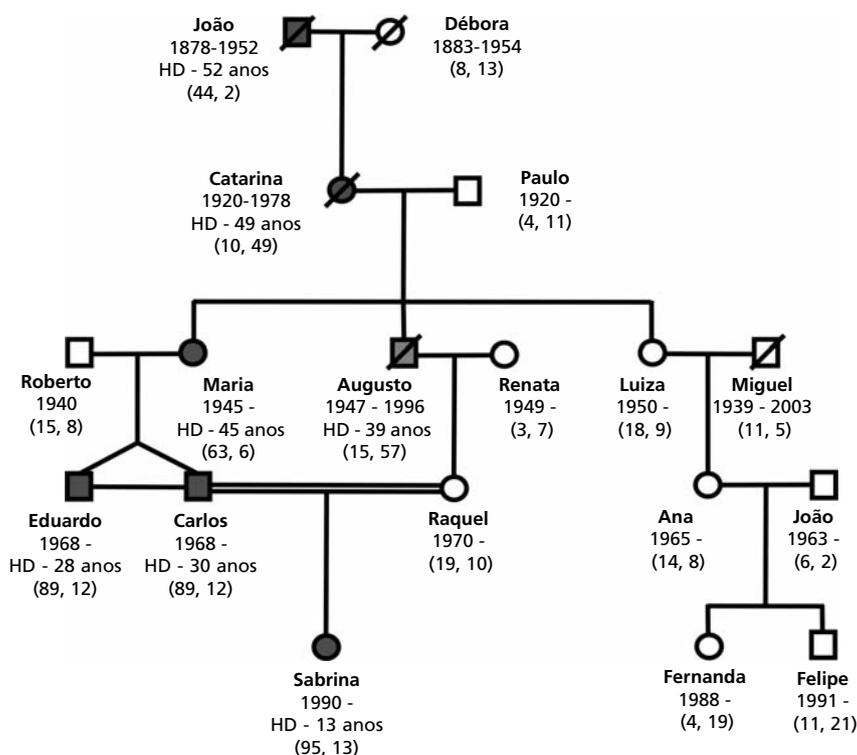
Mas como isso se explica? Apesar de a maior parte do DNA ser transmitida para a prole como cópias exatas, existem casos excepcionais. Pode haver, por exemplo, um aumento ou decréscimo no número de repetições de uma seqüência de trinucleotídeos encontradas em certos genes. A variação geralmente ocorre quando os genes passam dos genitores para os descendentes, devido à instabilidade dessas regiões que contêm seqüências repetidas. Esse fenômeno é chamado expansão de repetição de trinucleotídeos, e tem um papel importante na transmissão de algumas doenças genéticas humanas. A doença de Huntington e a síndrome do X frágil são exemplos desse fenômeno.

## Doença de Huntington

Os estudos moleculares demonstraram que a mutação responsável pela doença de Huntington corresponde a um aumento na repetição de trinucleotídeos (CAG) situada na região do gene HD do cromossomo 4. Essa expansão CAG do gene HD é polimórfica na população. As pessoas não afetadas tipicamente têm de 8 a 36 cópias

desta repetição. As pessoas com doença de Huntington podem ter de 39 a mais de 120 repetições em pelo menos um dos alelos que portam. Indivíduos com expansão entre 37 a 39 repetições podem apresentar manifestações clínicas ou não. Quanto maior o número de expansões, mais precoce é a apresentação clínica da doença. Porém, ainda não está claro se a gravidade da doença tem correlação com o número de expansões.

O processo de expansão do número de repetições CAG ocorre durante a meiose e é transmitida através dos gametas à próxima geração. Como resultado, a criança que herdar o alelo mutante do gene HD pode apresentar um fenótipo diferente de seus pais, além de alteração na idade de manifestação da doença (Figura 11.12).



**Figura 11.12:** Heredograma representando a transmissão da doença de Huntington em uma família. "HD" indica a idade em que ocorreu a manifestação dos sintomas da doença. Os números entre parênteses correspondem ao número de repetições de trinucleotídeos (CAG) na região do gene HD, em cada um dos homólogos do cromossomo 4. Procure identificar em cada indivíduo o homólogo recebido de cada um dos pais. Verifique, também, em que meioses o número de repetições foi alterado.

### Síndrome do cromossomo X frágil

Já no século XIX se tinha observado que, entre os indivíduos internados em instituições para deficientes mentais, a frequência de homens é cerca de 25% maior que a das mulheres. Hoje se sabe que este excesso de homens é, pelo menos em parte, devido ao grande número de doenças associadas a retardo mental que é determinado por genes do cromossomo X. A síndrome do cromossomo X frágil é a mais frequente dessas doenças e afeta cerca de 5% dos deficientes mentais. É, assim, a segunda causa genética de retardo mental, só suplantada em frequência

pela síndrome de Down. Entretanto, ao contrário da síndrome de Down, que não tende a se repetir nas famílias, a síndrome do cromossomo X frágil tem alto risco de recorrência nos familiares dos afetados.

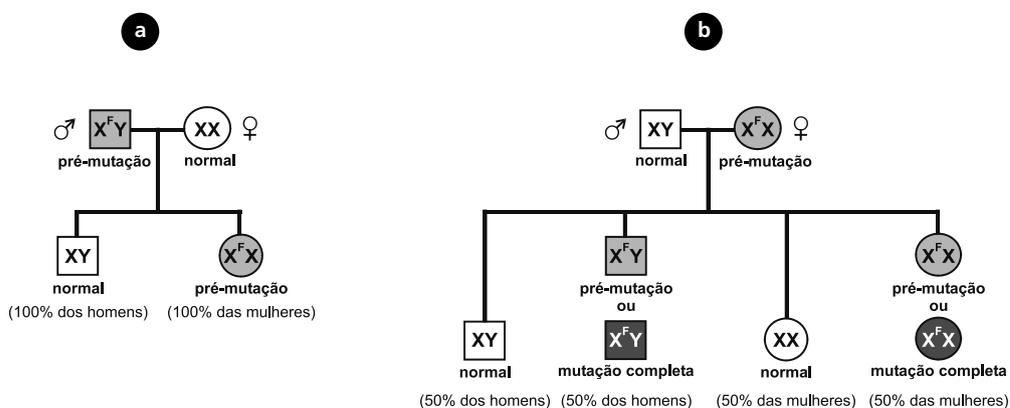
A designação da síndrome decorre do fato de o cromossomo X dos afetados apresentar uma falha no seu braço longo, quando suas células são cultivadas em condições de deficiência de ácido fólico ou que afetem o metabolismo das bases nitrogenadas necessárias para a síntese do DNA. Esse cromossomo é denominado X frágil ou (fra)X.

Em 1991, cientistas europeus e americanos descobriram o gene denominado FMR1 (*fragile X mental retardation*) causador da síndrome do X frágil. Nas pessoas portadoras da síndrome, um defeito no gene FMR1, denominado mutação completa, impede a produção da proteína FMRP, causando o conjunto de sintomas que dão origem à doença. A falta da proteína parece apenas atrasar o desenvolvimento dos neurônios, sem danificá-los ou destruí-los. Outros indivíduos são apenas portadores, não exibindo seus sintomas característicos. Eles possuem apenas um ligeiro defeito no gene FMR1, a que se dá o nome de “pré-mutação”. Nas pessoas do sexo masculino portadoras da síndrome, 20% encontram-se em pré-mutação, sendo os restantes 80% mutações completas. Já no sexo feminino, as porcentagens respectivas são de 50%.

Os homens portadores da síndrome do X frágil passam, através do cromossomo X, a pré-mutação a todas as suas filhas, porém, nunca aos seus filhos (que herdam o cromossomo Y). As mulheres portadoras, como têm 2 cromossomos X – sendo um carregando o gene afetado, têm probabilidade de 50% de o passarem para qualquer filha ou filho. A pré-mutação pode ser passada silenciosamente para sucessivas gerações de uma família antes de haver uma criança afetada com a doença na forma de uma mutação completa.

Os indivíduos afetados pela síndrome do X frágil apresentam uma extensa região de DNA constituída por uma seqüência de trinucleotídeos de CGG com freqüência de mais de 200 repetições na extremidade 5' do gene FMR1. Nestes indivíduos, esse gene geralmente se encontra completamente metilado, impedindo a produção da proteína FMRP. Enquanto na população em geral o número de repetições desse trinucleotídeo varia de 6 a 50, nos indivíduos portadores da pré-mutação detecta-se um número intermediário de repetições (entre 50 e 200). Esta região, geralmente, não encontra-se metilada, podendo, dessa forma, produzir a proteína FMRP.

O estudo da transmissão do gene alterado mostrou que os homens com a pré-mutação a transmitem para suas filhas com o número de repetições praticamente inalterado (Figura 11.13.a). Mas, quando transmitida por uma mulher, a pré-mutação pode sofrer aumento no número de repetições de trinucleotídeos, ficando ainda na categoria de pré-mutação ou transformando-se numa mutação completa (Figura 11.13.b). As mulheres com mutações com maior número de repetições são aquelas com maior risco de ter crianças afetadas. Sendo assim, o risco para a prole de mulheres portadoras da pré-mutação é maior a cada geração. Entretanto, nas mulheres o quadro clínico é, em geral, menos grave provavelmente pela *compensação de dose* do cromossomo X.



**Figura 11.13:** Representação esquemática do padrão de herança da síndrome do cromossomo X frágil. (a) Homem portador de pré-mutação; (b) mulher portadora de pré-mutação.

## INFORMAÇÃO SOBRE A PRÓXIMA AULA

Na próxima aula discutiremos um padrão específico de herança genética: a herança extranuclear, ou seja, de genes localizados fora do núcleo.

### RESUMO

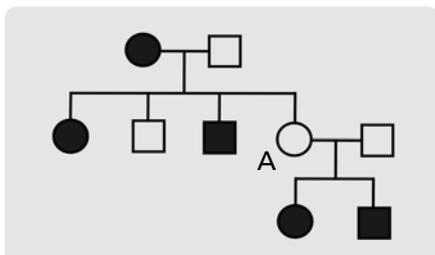
Determinadas características apresentam padrões diferenciados de herança genética. Algumas mutações possuem penetrância incompleta, que ocorre quando os indivíduos não apresentam uma característica, mesmo tendo o genótipo apropriado. Outras mutações podem apresentar uma expressividade variável, ou seja, uma variação no padrão de manifestação do fenótipo em indivíduos que apresentam o mesmo genótipo. Já o *imprinting* parental consiste num tipo de herança em que a expressão de um gene é controlada por sua origem parental. Nesses casos, observa-se que apenas um dos alelos, paterno ou materno, é normalmente expresso.

Em muitos casos, ao contrário do que se poderia imaginar, fêmeas homozigóticas para genes dos cromossomos X não expressam a característica mais intensamente do que os machos hemizigóticos. Esse fato pode ser explicado pela existência de dois mecanismos de *compensação de dose*: (1) hiperativação de genes ligados ao cromossomo X como em machos de *Drosophila*; ou (2) inativação de um dos cromossomos X como nas fêmeas de mamíferos. Neste último caso, uma fêmea heterozigótica para um alelo ligado ao X é capaz de apresentar mosaicismo fenotípico.

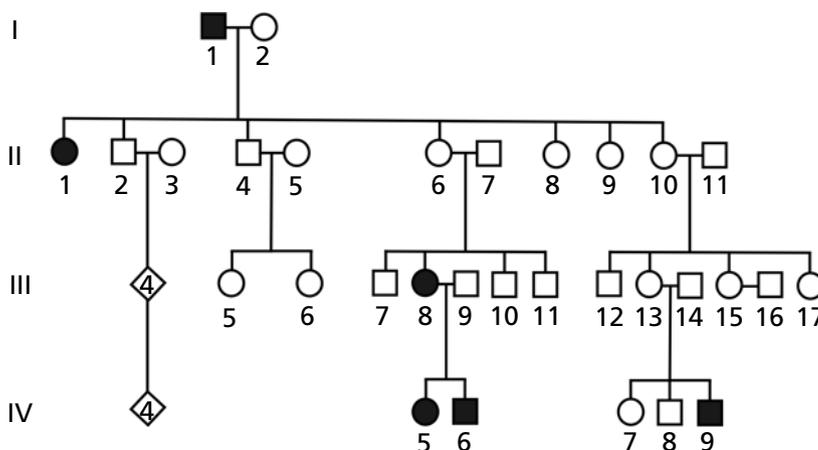
Apesar de a maior parte do DNA ser transmitida para a prole como cópias exatas, existem casos excepcionais. Pode haver um aumento ou decréscimo no número de repetições de uma seqüência de trinucleotídeos quando certos genes passam dos genitores para os descendentes. Esse fenômeno, chamado expansão de repetição de trinucleotídeos, pode causar a antecipação de determinadas mutações, sendo responsável por uma série de doenças humanas, como a doença de Huntington e a síndrome do X frágil.

### EXERCÍCIOS

1. No heredograma a seguir, os indivíduos em negrito apresentam fenótipo dominante controlado por um gene autossômico. O que este heredograma sugere sobre o fenótipo do indivíduo A e o que você pode deduzir sobre o seu genótipo?

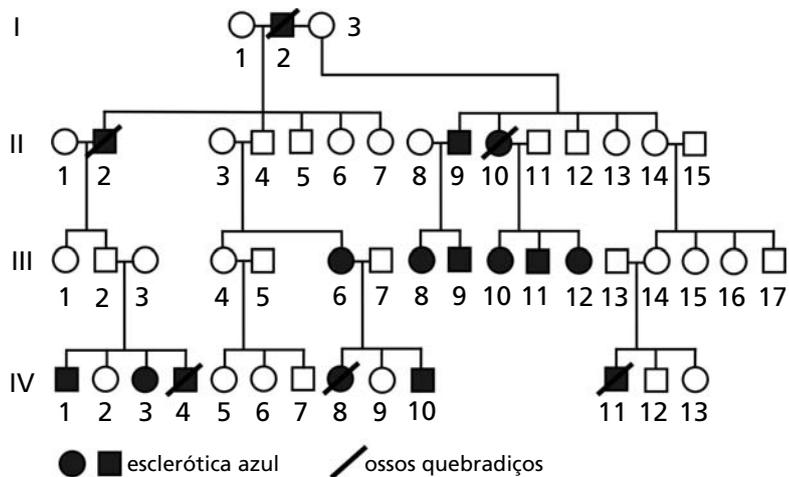


2. A maioria dos heredogramas mostra a polidactilia como sendo uma anomalia rara herdada de modo autossômico dominante, mas os heredogramas de algumas famílias não se ajustam aos padrões esperados para tal herança. Um deles é mostrado a seguir (os losangos claros mostram o número de pessoas não afetadas cujo sexo não foi informado).

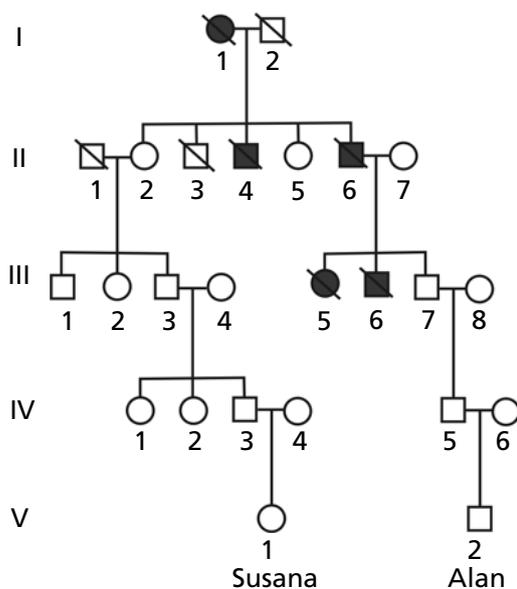


- Que irregularidade este heredograma mostra?
- Que fenômeno genético este heredograma ilustra?

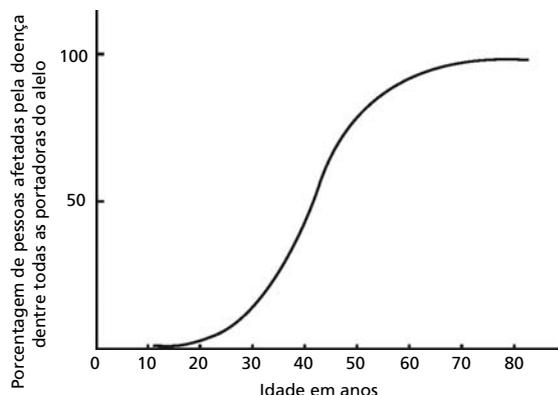
3. No heredograma a seguir está apresentada uma família afetada por duas anomalias genéticas. Em preto estão os indivíduos afetados pela esclerótica azul, que deixa fina e azulada a camada externa dos olhos. A barra (/) representa os indivíduos afetados pela presença de ossos quebradiços.



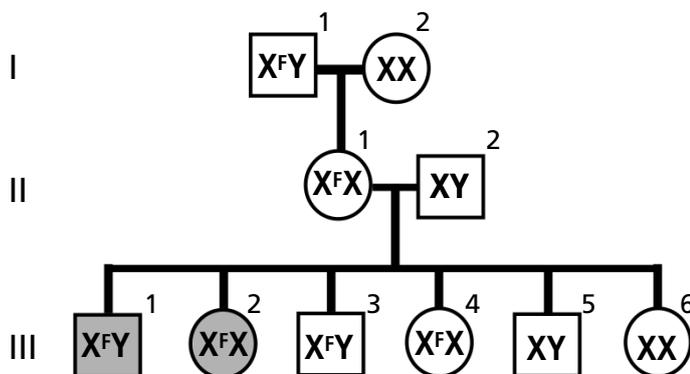
- Estas duas anomalias são causadas pelo mesmo gene ou por genes diferentes? Justifique sua resposta.
  - O(s) gene(s) é (são) autossômico(s) ou ligado(s) ao X? Por quê?
  - O heredograma mostra alguma evidência de penetrância incompleta ou expressividade variável?
4. O que você entende por *imprinting* parental? Como o *imprinting* afeta molecularmente os genes?
5. O heredograma abaixo é da doença de Huntington (HD), um distúrbio do sistema nervoso de manifestação tardia. As barras inclinadas indicam os membros da família que já morreram.



- a) Este heredograma é compatível com que modo de herança?
- b) Considere as duas crianças recém-nascidas na geração V do heredograma, Susana e Alan. Estudando o gráfico abaixo, calcule a chance da cada um ter herdado o alelo que causa a doença, e formule uma opinião sobre a possibilidade de eles desenvolverem HD. Suponha, nessa discussão, que os genitores tiveram os filhos aos 25 anos de idade.



6. O heredograma abaixo é o exemplo de uma família portadora do alelo para a síndrome do X frágil, um caso de antecipação genética. Os indivíduos em negrito são afetados, apresentando retardo mental. Como você explicaria o padrão de transmissão apresentado?  $X^f$  indica que o gene possui um número de repetições de CGG maior do que o normal.



7- As mulheres que possuem a síndrome de X frágil apresentam, em geral, um quadro clínico menos grave do que os homens, provavelmente devido ao mecanismo de compensação de dose do cromossomo X. Explique como a compensação de dose nas mulheres pode abrandar os sintomas desta síndrome.

## Herança extranuclear

# AULA 12

## objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Reconhecer a existência de genes extranucleares, sua organização e padrão de transmissão.
- Identificar as principais doenças humanas causadas por mutações em genes mitocondriais.
- Compreender a importância do uso de DNA mitocondrial em estudos sobre a evolução.

### **Pré-requisito**

Divisão celular e ciclos reprodutivos.  
Teoria cromossômica da herança.  
Estrutura do DNA.

Os “conceitos”, tal como os reconhecemos, são ao mesmo tempo o produto e o processo de uma atividade de construção mental da realidade... Não são simples imagens ou representações mentais, mas sim indicadores de um modelo, um tipo de discurso intelectual, em resposta a um problema ou uma série de problemas.

*André Giordan*

Como você já sabe, a maior proporção do DNA dos organismos eucarióticos é encontrada nos cromossomos nucleares. Porém, na aula de hoje veremos que existem duas organelas celulares – as mitocôndrias e os cloroplastos – que apresentam tipos particulares de cromossomos. Estes cromossomos contêm genes que codificam funções específicas dessas organelas. O cromossomo mitocondrial é chamado de mtDNA e o cromossomo do cloroplasto de cpDNA, sendo o número de genes nesses cromossomos pequeno em relação ao número de genes nucleares. Por exemplo, o genoma nuclear humano consiste em aproximadamente  $3 \times 10^9$  pares de bases (pb) contendo cerca de 30.000 genes, enquanto o DNA mitocondrial tem cerca de 16.000 pb com 37 genes conhecidos. Os genes de mitocôndrias e cloroplastos são, em geral, específicos para cada uma dessas organelas e não possuem cópias nos cromossomos nucleares. No entanto, já foram identificadas algumas cópias inativas de genes extranucleares nos cromossomos nucleares.

Mas qual será a origem do material genético presente nas mitocôndrias e nos cloroplastos? A hipótese mais aceita é de que essas organelas celulares surgiram a partir de organismos endossimbiontes. As células pré-eucarióticas ancestrais teriam sido “invadidas” em diferentes épocas por organismos procariontes fotossintetizantes e não-fotossintetizantes que estabeleceram uma simbiose mutuamente benéfica e, no curso da evolução, originaram, respectivamente, os cloroplastos e as mitocôndrias presentes nas células dos eucariontes modernos.

Os cromossomos de cloroplastos e mitocôndrias possuem algumas características que os diferem dos cromossomos nucleares. Em geral, os cromossomos dessas organelas são circulares, embora existam evidências de que podem adquirir formas lineares. Outras diferenças incluem possuir um grau de condensação menor quando comparado aos cromossomos nucleares e estarem presentes em centenas ou milhares de cópias por células.

Assim como os genes nucleares, os genes de organelas sofrem mutações pontuais, como deleções e substituições, e rearranjos cromossômicos. No mtDNA de mamíferos, por exemplo, a taxa de substituição de pares de bases é aproximadamente 10 vezes mais alta que a dos genes nucleares.

Muitas dessas mutações são expressas como fenótipos anormais e, como as mitocôndrias e cloroplastos estão relacionados à produção energia, o fenótipo mutante normalmente tem crescimento lento ou de aspecto anormal.

A descoberta do DNA de cloroplastos e mitocôndrias foi antecipada pelos estudos que apontaram, no início do século XX, a existência de fatores hereditários fora do núcleo. Os primeiros estudos eram realizados com plantas, que possuem tanto cloroplastos como mitocôndrias. Desta forma, era difícil identificar qual das duas organelas era responsável pela herança não-nuclear. Estudos posteriores utilizaram leveduras, para as quais o envolvimento de cloroplastos podia ser excluído. Através desses estudos os cientistas puderam concluir que a hereditariedade das organelas não segue as regras mendelianas, caracterizando-se por contribuições desiguais dos dois genitores. Acompanharemos, a seguir, alguns desses estudos clássicos.

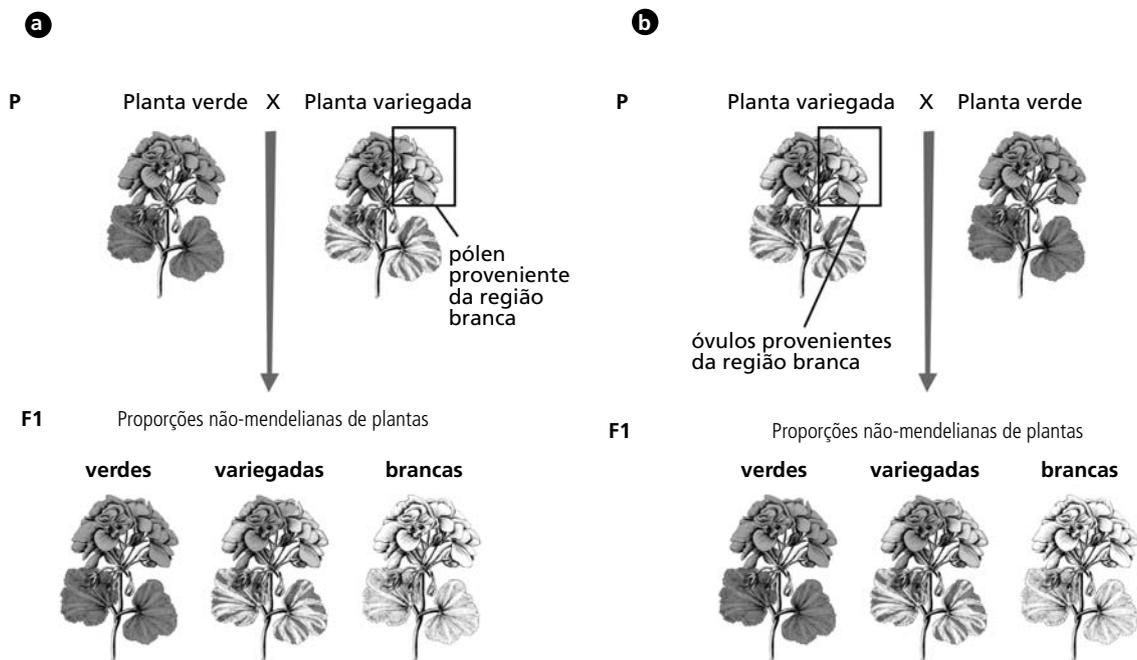
## VARIEGAÇÃO DE FOLHAS EM ANGIOSPERMAS

Eventualmente, as folhas de plantas apresentam um padrão marcante de variação de cor: alguns setores da folha têm coloração verde e outros, branca, podendo existir tonalidades intermediárias de verde claro ou amarelo-esverdeado (**Figura 12.1**). A variação das folhas despertou o interesse de muitos pesquisadores, principalmente por suas qualidades ornamentais. Esse fenótipo pode ser explicado pela distribuição de diferentes tipos de cloroplastos durante a multiplicação celular. Alguns dos cloroplastos possuem o alelo capaz de sintetizar o pigmento verde e outros não. Quando uma célula se divide, os dois tipos de cloroplastos são distribuídos de modo aleatório para as células-filhas. Após algumas divisões, uma distribuição irregular pode produzir uma célula que não tenha cloroplastos produtores de pigmento. Essa célula irá então proliferar em um setor branco da folha. Esses setores são irregulares em tamanho, forma e posição.



Na *Mirabilis*, os cloroplastos são transmitidos para a prole pelas células reprodutivas femininas, mas são inteiramente excluídos das células reprodutivas masculinas. Portanto, os cloroplastos eram os candidatos óbvios para conter esses fatores. Quando uma planta herda uma mistura de cloroplastos pigmentados e não pigmentados do seu progenitor, seus tecidos podem variegar porque os dois tipos de cloroplastos se distribuem aleatoriamente durante seu desenvolvimento.

Baur estudou a variegação das folhas em outra espécie ornamental, *Pelargonium zonale*. Nessa planta, os cruzamentos entre as linhagens verde e variegada produzem uma mistura de prole, algumas verdes, algumas variegadas e algumas brancas puras. Entretanto, esses fenótipos não aparecem nas proporções mendelianas (Figura 12.3). Esta herança *biparental* não-mendeliana indica que a cor das folhas de *Pelargonium* é determinada por uma mistura de fatores maternos e paternos situados fora do núcleo, provavelmente nos cloroplastos. Dessa forma, fica evidente que nessa espécie os cloroplastos são transmitidos tanto pelo pólen como pelo ovócito. Contudo, a base molecular da variegação das folhas ainda é desconhecida.

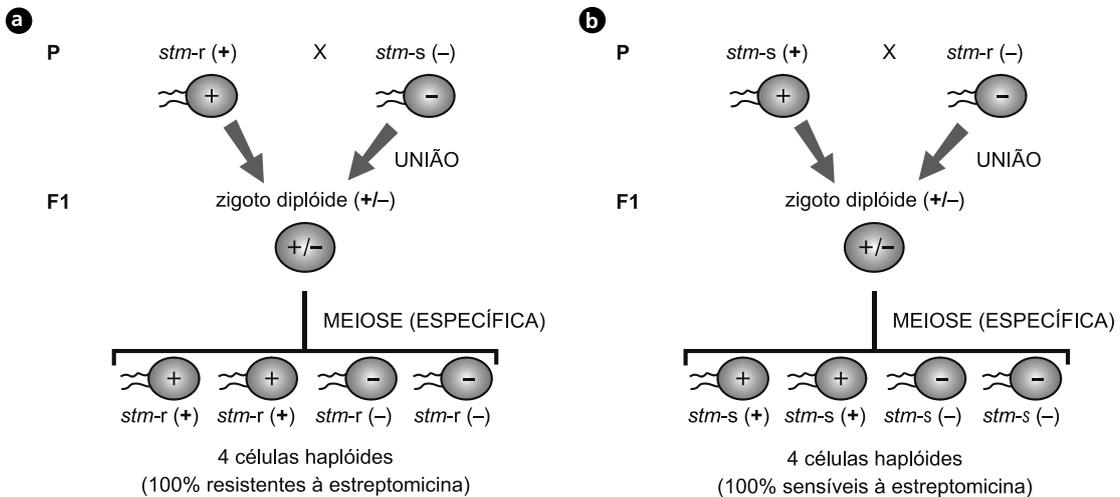


**Figura 12.3: Experimentos de Baur sobre a herança de variegação em folhas de *Pelargonium*.** a) cruzamento entre planta verde (fonte dos gametas femininos) e planta variegada (fonte dos gametas masculinos; pólen retirado da região branca). b) cruzamento recíproco entre planta variegada (fonte dos gametas femininos; óvulos retirados da região branca) e planta verde (fonte dos gametas masculinos). Em ambos os casos, três tipos de plantas foram obtidas, em proporções não-mendelianas, um caso de herança biparental não-mendeliana.

## RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS EM *CHLAMYDOMONAS*

As algas verdes fotossintetizantes são uma parte importante da biosfera. Uma espécie terrestre, a *Chlamydomonas reinhardtii*, foi amplamente usada em pesquisas genéticas. A *Chlamydomonas reinhardtii* é um organismo haplóide unicelular que contém um único cloroplasto grande e várias mitocôndrias. Nessa espécie existem dois tipos reprodutivos diferentes, representados por (+) e (-). As células de tipos reprodutivos diferentes se fundem e produzem um zigoto diplóide. Esse zigoto, então, sofre meiose e origina quatro células haplóides, sendo duas (+) e duas (-).

Em 1954, Ruth Sager, uma geneticista americana, descobriu que a resistência a antibióticos na *Chlamydomonas* é herdada de modo não-mendeliano. Sager cruzou indivíduos (+) mutantes que apresentavam resistência ao antibiótico estreptomicina (*stm-r*) com indivíduos (-) sensíveis a esse antibiótico (*stm-s*) (Figura 12.4). Toda a prole apresentava resistência ao antibiótico. Em seguida, Sager cruzou indivíduos (-) resistentes à estreptomicina com indivíduos (+) sensíveis, obtendo uma prole inteiramente sensível. Os estudos mostraram que a resistência ou sensibilidade à estreptomicina em *Chlamydomonas* é controlada por um fator com padrão de transmissão não-mendeliano.



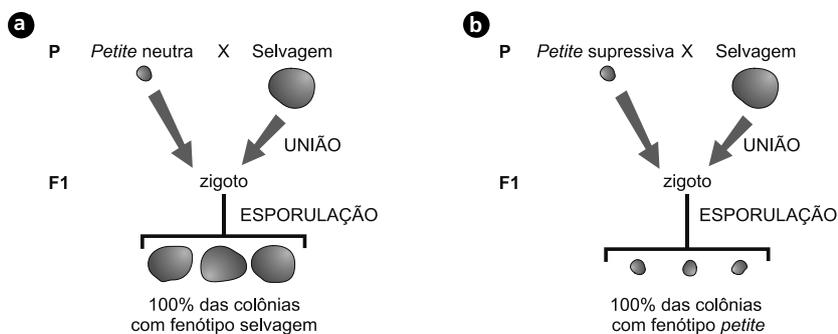
**Figura 12.4: Experimentos de Sager sobre a herança da resistência à estreptomicina em *Chlamydomonas reinhardtii*.** a) cruzamento entre linhagem (+) resistente e linhagem (-) sensível. b) cruzamento recíproco entre linhagem (-) resistente e linhagem (+) sensível. Em ambos os casos, a prole apresentou o fenótipo da linhagem parental (+), um caso de herança uniparental.

A resistência ou a sensibilidade, nesse caso, é sempre herdada pelo citoplasma da célula (+), num caso de *herança uniparental*. Sager logo descobriu outras características que seguiam esse padrão de herança. Esses fenômenos foram finalmente esclarecidos quando foi descoberto DNA no cloroplasto de *Chlamydomonas*. Tanto as células (+) quanto as (-) possuem esse DNA, porém, quando ocorre o cruzamento, o cloroplasto da célula (-) é degradado e apenas o cloroplasto da célula (+) é transmitido às células-filhas.

## DEFEITOS METABÓLICOS EM LEVEDURAS

Algumas linhagens mutantes em leveduras formam pequenas colônias quando cultivadas em meio contendo glicose. Essas linhagens são chamadas mutantes *petites* (pequenas em francês). Experimentos demonstraram que as linhagens *petites* sofrem de um defeito no metabolismo de glicose. Esse defeito é causado pelas mitocôndrias dessas células que são malformadas, não contendo muitas das macromoléculas encontradas nas mitocôndrias selvagens. Dessa forma, a mitocôndria fica impossibilitada de realizar o metabolismo aeróbico, gerando células de tamanho reduzido.

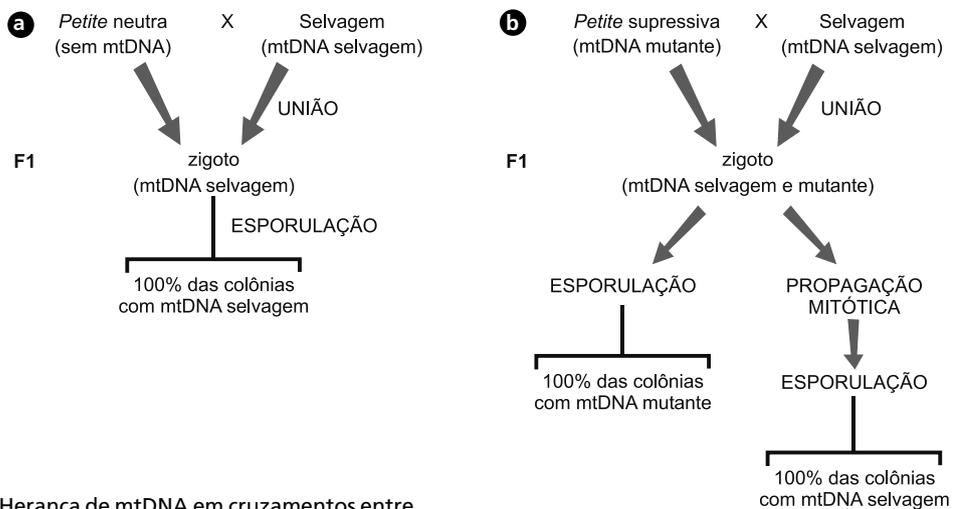
As primeiras análises genéticas da condição *petite* foram feitas pelo pesquisador francês Boris Ephrussi nas décadas de 1940 e 1950. Sua análise revelou a existência de duas classes de mutantes: os *petites* neutros e os *petites* supressivos. Os mutantes *petites* neutros são caracterizados pela inabilidade de transmitir o fenótipo *petite* para a prole em um cruzamento com linhagens selvagens. Nesses cruzamentos, todos os quatro haplóides originários do cruzamento crescem em colônias grandes, sugerindo que a mutação *petite* tenha sido perdida (Figura 12.5.a). Em contraste, os mutantes *petites* supressivos são, em condições apropriadas, capazes de transmitir o fenótipo *petite* para toda a sua prole, sugerindo que a condição tipo selvagem foi perdida (Figura 12.5.b).



**Figura 12.5:** Segregação não-mendeliana de (a) mutações *petites* neutras e (b) *petites* supressivas em leveduras.

A base molecular dos dois tipos de mutantes *petite* foi determinada nas décadas de 1970 e 1980. Os *petites* neutros não têm nenhum DNA mitocondrial, e os *petites* supressivos têm um DNA mitocondrial muito mutado. Um cruzamento entre um mutante *petite* neutro e o tipo selvagem produz zigotos que herdam mitocôndrias de ambos os genitores. Entretanto, apenas as mitocôndrias do genitor tipo selvagem contêm algum DNA. Quando esses zigotos sofrem meiose e formam esporos, o DNA mitocondrial tipo selvagem é distribuído para cada um dos quatro ascósporos (os ascomicetos têm ciclo de vida do tipo haplobionte haplonte, veja Aula 3). À medida que eles crescem e se multiplicam, desenvolvem-se mitocôndrias saudáveis e funcionais, permitindo que as células façam o metabolismo aeróbico, produzindo colônias de tamanho normal (Figura 12.6.a).

Um cruzamento entre um mutante supressivo *petite* e uma linhagem tipo selvagem produz zigotos com DNA mitocondrial de ambos os progenitores. Se esses zigotos forem esporulados imediatamente, os ascósporos resultantes herdam apenas o mtDNA mutante e crescem em colônias *petite*. Entretanto, se os zigotos forem primeiro propagados mitoticamente em cultura líquida e então esporulados, cada ascósporo herda o mtDNA tipo selvagem e cresce em colônias grandes (Figura 12.6.b). Esses resultados sugerem que o mtDNA mutante inicialmente tem algum tipo de vantagem, suprimindo o DNA tipo selvagem. Acredita-se que, por diferenças no tamanho e na estrutura do mtDNA tipo mutante, sua replicação é mais rápida. Entretanto, durante a propagação mitótica, a replicação do mtDNA tipo selvagem se iguala à do mutante e por fim a ultrapassa.



**Figura 12.6:** Herança de mtDNA em cruzamentos entre linhagens *petite* neutra e selvagem (a), e entre linhagens *petite* supressiva e selvagem (b), em levedura. O mtDNA mutante da linhagem *petite* supressiva possui um tamanho menor do que o mtDNA selvagem, devido à perda de segmentos cromossômicos.

## DOENÇAS MITOCONDRIAS HUMANAS

O mtDNA humano consiste em um cromossomo em forma de anel, com cerca de 17.000 pares de bases que codificam 13 polipeptídeos que participam da via mitocondrial produtora de energia (fosforilação oxidativa). A maioria das proteínas necessárias para o desenvolvimento das próprias mitocôndrias é produzida por genes nucleares. Assim, algumas das doenças devidas ao mau funcionamento das mitocôndrias são causadas por defeitos nesses genes, seguindo o padrão mendeliano clássico de herança. Por outro lado, as doenças provenientes de defeitos em genes do genoma mitocondrial são transmitidas como as próprias mitocôndrias, isto é, da mãe para toda a prole, independente do sexo. Entretanto, considerando o grande número de mitocôndrias que um ovócito contém, e o número de genomas por mitocôndria (de 5 a 10 moléculas de mtDNA), não é surpreendente que uma criança possa herdar de sua mãe mais que um tipo de genoma mitocondrial.

As células que contêm dois ou mais tipos diferentes de genomas mitocondriais são chamadas *heteroplásmicas*. Durante o seu desenvolvimento, um dos genomas pode se tornar, aleatoriamente, mais abundante até constituir linhagens de células *homoplásmicas*, onde só será encontrado um único tipo de genoma mitocondrial. Isto pode explicar em parte a enorme variação fenotípica entre indivíduos com a mesma doença mitocondrial. A seguir, discutiremos algumas das doenças mitocondriais que afetam a espécie humana.

### Atrofia óptica de Leber

Esta doença caracteriza-se pela morte do nervo óptico nos adultos, ocasionando uma súbita perda de visão. Os homens são mais freqüente e gravemente afetados que as mulheres, sendo grande a variação na gravidade da doença em ambos os sexos. Como seria de se esperar para uma mutação mitocondrial, a atrofia óptica de Leber é herdada estritamente pela linhagem materna; não sendo conhecida transmissão pelos homens. As análises moleculares demonstraram que essa doença possui *heterogeneidade genética*, ou seja, pode ser causada por mutações em um dentre os vários genes mitocondriais que codificam as proteínas envolvidas no processo de fosforilação oxidativa, reduzindo a eficiência desse processo. Essa redução de eficiência pode ser suficientemente grande para destruir o funcionamento do nervo óptico e causar a cegueira total.



Na fertilização, o óvulo contém cerca de 200.000 mtDNAs. Uma vez fertilizado, o DNA nuclear se replica e o zigoto sofre clivagem, mas o mtDNA não se replica até a formação do blastocisto. Como as células do blastocisto que irão formar o embrião propriamente dito constituem apenas uma fração de todas as suas células, poucas moléculas de mtDNA do óvulo são encontradas nas células germinativas primordiais. Entretanto, é questionável se esse mecanismo é suficiente para criar uma "população" homogênea de mtDNA nas células humanas.

## Síndrome de Pearson

A síndrome de Pearson é caracterizada pela perda de células da medula óssea durante a infância, sendo geralmente fatal. Pacientes afetados por essa síndrome possuem uma deleção relativamente grande no mtDNA, sendo essa a causa do desencadeamento da doença. As pessoas doentes quase nunca têm os genitores afetados, o que sugere que a deleção responsável provavelmente ocorre espontaneamente durante o desenvolvimento da criança ou durante a ovocitogênese da mãe. As pessoas com síndrome de Pearson têm uma mistura de mtDNA deletado e normal – um exemplo de heteroplasmia mitocondrial.

## DNA MITOCONDRIAL E O ESTUDO DA EVOLUÇÃO HUMANA

O estudo da evolução humana sempre foi um assunto que fascinou os cientistas e, até o desenvolvimento da Biologia Molecular, dependia da análise de fósseis raros – fragmentos de ossos, dentes e utensílios. No entanto, hoje em dia, a evolução humana, e de outras espécies, pode ser estudada comparando-se as seqüências de DNA. Cada seqüência de DNA descende de uma seqüência que estava presente em um organismo ancestral. Assim, as seqüências de DNA que encontramos hoje refletem as seqüências de DNA dos organismos fósseis transmitidas por muitas gerações. Nesse processo, as seqüências de DNA sofreram uma série de mutações que são encontradas nos organismos atuais.

Alguns dos mais esclarecedores estudos da evolução humana envolvem a análise de DNA mitocondrial. Existem três motivos pelos quais o mtDNA é considerado tão útil: (1) ser transmitido exclusivamente pela mulher; (2) não sofrer recombinação; (3) evoluir mais rápido que o DNA nuclear. A estrita transmissão materna do mtDNA e a não ocorrência de recombinação permitem que os cientistas rastreiem seqüências modernas de DNA até uma ancestral feminina comum. Já a sua rapidez da evolução permite que sejam detectadas mudanças genéticas significativas em um período relativamente curto de tempo, se comparado ao DNA nuclear.

Os primeiros estudos do mtDNA humano, no início da década de 1980, demonstraram a existência de relativamente pouca variação no mtDNA de populações humanas diferentes, sendo as maiores variações encontradas em populações africanas. Tendo em vista a taxa estimada para evolução do mtDNA, esses estudos indicavam que os seres humanos modernos se originaram nos últimos 200.000 anos na África. Embora essas conclusões fossem inicialmente controversas, diversos trabalhos posteriores as reforçaram.

Você terá a oportunidade de aprofundar seus conhecimentos sobre o uso da análise do mtDNA em estudos evolutivos na disciplina Evolução.

## RESUMO

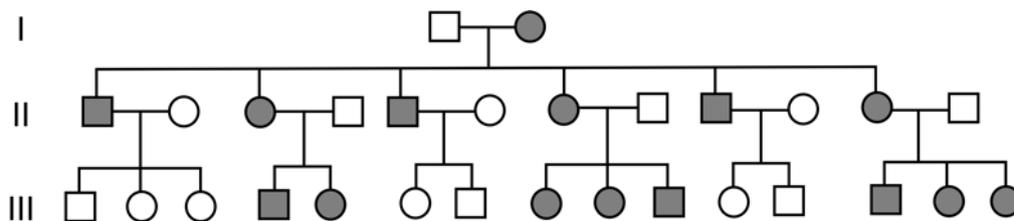
As mitocôndrias contêm múltiplas cópias de um pequeno cromossomo circular com genes cujas funções estão relacionadas à fosforilação oxidativa e à síntese de proteínas mitocondriais. Os cloroplastos também possuem muitas cópias de um único cromossomo circular de DNA que contém genes relacionados com a fotossíntese e a produção de proteínas estruturais dessa organela. Mutações em alguns desses genes levam a defeitos nos sistemas de produção de energia e, portanto, a um crescimento lento ou anormal.

Genes localizados em diferentes tipos de DNA extranuclear apresentam padrões de herança não-mendelianos, como herança materna, biparental ou uniparental. Nos humanos, a maioria das proteínas necessárias para o desenvolvimento das mitocôndrias é produzida por genes nucleares. Assim, algumas das doenças devidas ao mau funcionamento das mitocôndrias são causadas por defeitos nesses genes, que seguem os padrões mendelianos clássicos de transmissão da herança. Por outro lado, as doenças provenientes de defeitos em genes do genoma mitocondrial são transmitidas como as próprias mitocôndrias, isto é, da mãe para toda a prole, independente do sexo.

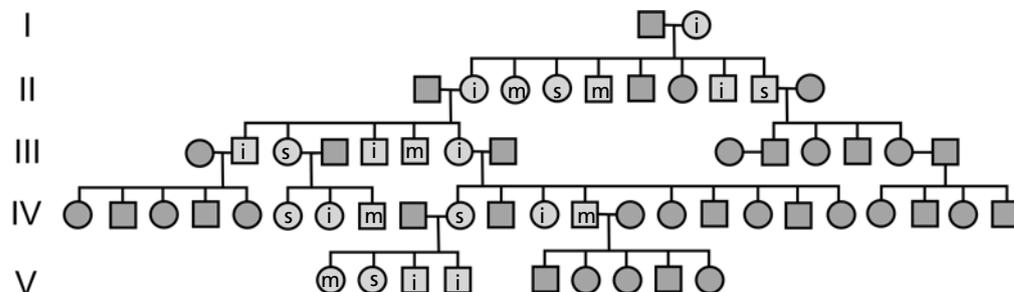
Atualmente, diversos estudos em Biologia Evolutiva vêm empregando a análise do DNA mitocondrial. A estrita transmissão materna do mtDNA e a não ocorrência de recombinação permitem que os cientistas rastreiem seqüências modernas de DNA até uma seqüência ancestral comum. Já a rapidez da sua evolução permite que sejam detectadas mudanças genéticas significativas em um período relativamente curto de tempo, se comparado ao DNA nuclear.

## EXERCÍCIOS

1. Plantas, tais como as do gênero *Mirabilis*, podem ter setores verdes, verde-claros e brancos em suas folhas devido à variação em genes localizados no cpDNA. Se tais setores derem origem a estruturas reprodutivas da planta, que características de cor cada setor deverá transmitir através de gametas masculinos e femininos?
2. Uma linhagem (+) de *Chlamydomonas* resistente ao antibiótico **espectinomicina** foi cruzada com uma linhagem (-) resistente ao antibiótico **estreptomomicina**. Sabe-se que os genes para resistência a esses dois antibióticos residem no cpDNA. Após os cruzamentos, toda a prole era **resistente à espectinomicina e sensível à estreptomomicina**. Explique o porquê.
3. Duas linhagens mutantes *petite* de levedura (M1 e M2) que produziam colônias pequenas quando cultivadas em meio rico em glicose foram cruzadas com linhagens do tipo selvagem. O cruzamento que incluiu a linhagem M1 resultou numa prole toda do tipo selvagem, enquanto o cruzamento que incluiu a linhagem M2 produziu toda a prole com colônias pequenas. A partir do seu conhecimento sobre a mutação *petite* em leveduras, interprete os resultados e dê uma explicação para o ocorrido em ambos os cruzamentos.
4. O heredograma abaixo mostra uma doença humana rara. Qual o padrão de herança mais provável para essa doença?

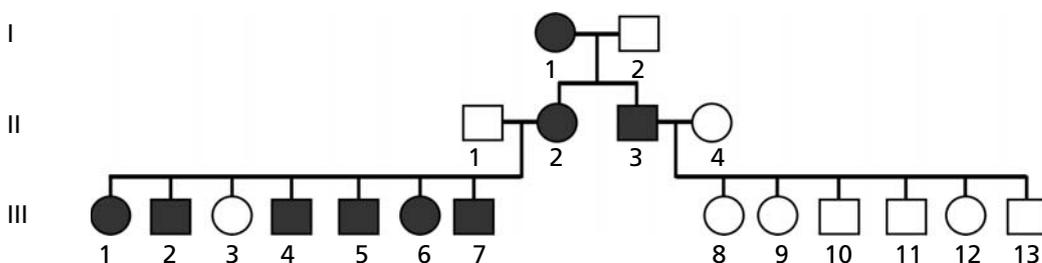


5. A expressão da cardiomiopatia hereditária em humanos pode ser de branda a grave, com a expressão grave em geral resultando em morte prematura. O heredograma seguinte mostra a ocorrência (indivíduos claros) e a gravidade da cardiomiopatia em uma família. A gravidade da doença é indicada pelas letras m (branda), i (intermediária) e s (severa).



- Qual o tipo de herança mais provável para a cardiomiopatia?
- Como você explicaria a expressividade variável da cardiomiopatia nesse heredograma?

6. O heredograma humano abaixo refere-se a uma anomalia visual rara, na qual a pessoa afetada perde a visão central, embora mantenha a visão periférica.



- Qual o padrão de herança mais provável para essa característica?
- Como você explicaria a ausência de manifestação da doença nos indivíduos II.1 e II.4?
- E nos indivíduos III.8 a III.13?
- E no caso do indivíduo III.3?



# objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Reconhecer que exceções às teorias estabelecidas fornecem evidências para que estas teorias sejam complementadas ou substituídas.
- Identificar a ocorrência de ligação gênica através da análise de cruzamentos.
- Reconhecer a permuta cromossômica como uma das causas de recombinação gênica.

## Pré-requisito

Possuir noções básicas de testes de hipóteses, conceito visto nas aulas de Bioestatística.

## INTRODUÇÃO

Como ponto de partida da aula de hoje, recordamos que o estabelecimento da teoria cromossômica da herança, no começo do século XX, desencadeou um grande período de investigação genética. Muitos geneticistas ficaram motivados a estudar a segregação dos alelos em mais de um gene, através de cruzamentos entre indivíduos com mutações visíveis.

Por vezes, os resultados desses experimentos estavam de acordo com o esperado pelas leis de Mendel, reforçando a idéia de que alelos de genes diferentes segregam independentemente. Entretanto, em alguns casos foram encontrados resultados inesperados, e essas exceções passaram a ser intensamente estudadas.

Quando alelos de dois genes diferentes eram transmitidos juntos para a prole em uma frequência superior à esperada pela segregação independente, os genes eram ditos acoplados.

Mesmo sem o conhecimento exato da natureza do acoplamento, alguns geneticistas, incluindo Thomas Morgan e seus alunos, imaginavam que genes presentes em um mesmo cromossomo estariam ligados uns aos outros como as contas de um colar. Esse modelo linear da organização dos genes nos cromossomos e as observações citológicas de trocas entre segmentos cromossômicos serviram de base para a hipótese de Morgan, que pretendia explicar como ocorriam algumas das exceções às leis de Mendel, encontradas nos mais diversos cruzamentos.

## LEI DA SEGREGAÇÃO INDEPENDENTE: EXISTEM EXCEÇÕES?

Na Aula 6, vimos que Sutton, a partir da observação da semelhança entre o comportamento dos cromossomos durante a meiose e a segregação dos fatores hereditários postulados por Mendel, propôs que os fatores mendelianos, atualmente conhecidos como genes, deveriam estar nos cromossomos. Contudo, na época, havia o questionamento de que os genes não só poderiam estar nos cromossomos, mas também poderiam estar em qualquer outra estrutura celular que tivesse comportamento semelhante.

Várias pesquisas foram necessárias até que a comunidade científica ficasse convencida da idéia proposta por Sutton. A partir da hipótese de que os genes estariam nos cromossomos, uma série de deduções pôde ser feita e testada, até que a Teoria Cromossômica da Herança fosse aceita acima de qualquer suspeita.

O próprio Sutton não se limitou a descrever o que havia observado, tendo realizado deduções que levaram a importantes descobertas sobre a relação entre genes e cromossomos. Por exemplo, ele deduziu que se houvesse apenas um gene em cada cromossomo, “(...) o número de características diferentes de um indivíduo não poderia exceder o número de cromossomos nos gametas: o que é indubitavelmente contrário aos fatos” (Sutton, 1903).

Com esse pensamento dedutivo, Sutton chegou à conclusão de que poderiam existir muitos genes em um mesmo cromossomo. Observe esse outro trecho de seu trabalho publicado em 1903: “Nós devemos, assim, assumir que pelo menos alguns cromossomos estão relacionados a um certo número de diferentes **ALELIFORMES**.”

Porém, Sutton foi além dessa conclusão. Ele havia observado que os cromossomos mantinham sua individualidade no decorrer dos processos de divisão celular e, então, imaginou que os cromossomos de um indivíduo deveriam ser transmitidos aos seus descendentes sem qualquer alteração em sua composição alélica. Assim, Sutton propôs que “se os cromossomos retêm permanentemente as suas individualidades, então todos os alelomorfos presentes em um mesmo cromossomo devem ser herdados juntos”.

Mas, e quanto à lei da segregação independente? Se a hipótese de que genes do mesmo cromossomo são herdados juntos estivesse correta, não haveria, a princípio, a possibilidade de segregação independente entre estes genes. Nesse caso, deveríamos encontrar resultados diferentes dos observados por Mendel. De fato, conforme aumentava o número de experimentos com cruzamentos entre indivíduos mutantes para mais de um gene, também aumentava o número de resultados que não se ajustavam às proporções fenotípicas esperadas pela 2ª Lei de Mendel.

No começo do século XX, parecia claro para os geneticistas que aceitavam as hipóteses suttonianas que o modelo original de Mendel não era completamente satisfatório. Ele não conseguia explicar os resultados observados quando dois ou mais genes estivessem localizados no mesmo par de cromossomos homólogos, embora explicasse satisfatoriamente como ocorria a segregação independente dos genes localizados em cromossomos diferentes.

### **ALELIFORME**

Era o termo usado na época para designar alelos.

### TESTANDO A 2ª LEI: SEGREGAÇÃO INDEPENDENTE x LIGAÇÃO GÊNICA

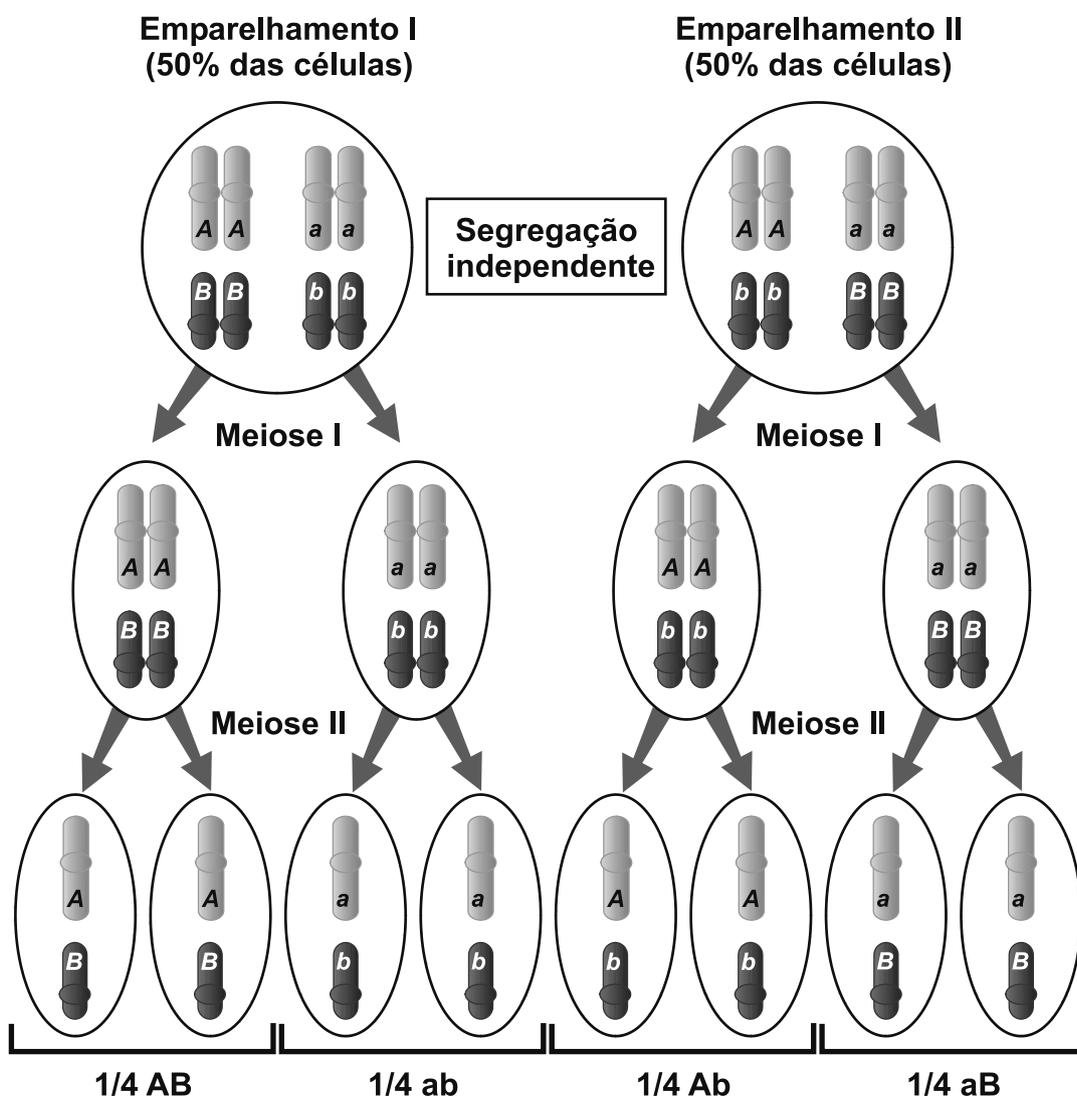
Para facilitar a compreensão, acompanhe os cruzamentos apresentados no **Quadro 13.1**. Nestes experimentos, você vai observar cruzamento de indivíduos puros que diferem quanto a duas características e a F1 (díbrida) obtida cruzada com indivíduos duplo-homozigotos recessivos. Como você deve se lembrar, o cruzamento entre um indivíduo heterozigótico para um ou mais genes com um homozigoto recessivo é chamado de cruzamento-teste.

**Quadro 13.1:** Resultados de cruzamentos entre indivíduos díbridos.

Características analisadas	Geração parental	Geração F1	Cruzamento-teste (F1 x duplo-homozigoto recessivo)
ERVILHA: cor e forma da semente	I amarela-rugosa x verde-lisa	100% amarela-lisa	252 sementes amarela-lisa
			248 sementes verde-rugosa
			250 sementes amarela-rugosa
			258 sementes verde-lisa
DROSÓFILA: forma da asa e cor do corpo	II selvagem-selvagem x delta-ebony	100% selvagem	52 moscas selvagem-selvagem
			48 moscas delta-ebony
	III selvagem-ebony x delta-selvagem	100% selvagem	49 moscas selvagem-ebony
			50 moscas delta-selvagem

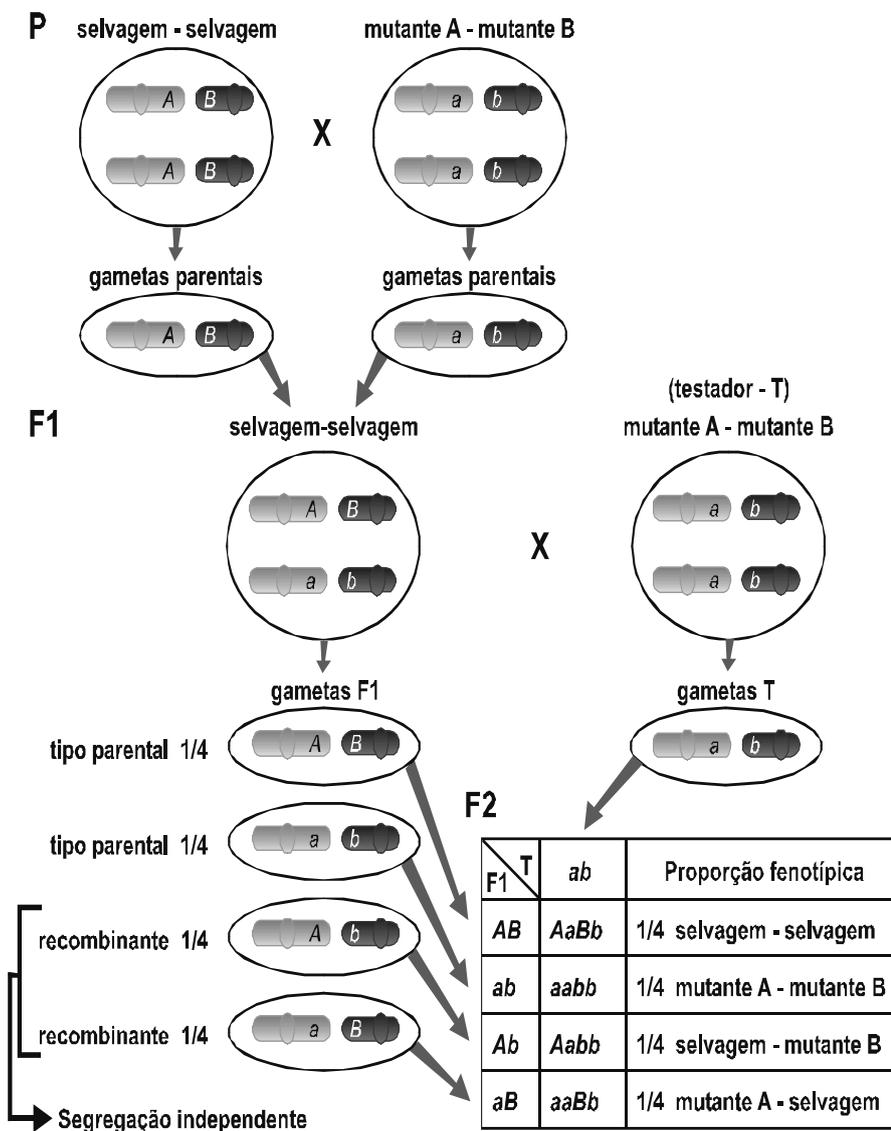
Vamos começar calculando os resultados esperados pela lei da segregação independente. Em todos os casos, os indivíduos da F1 são heterozigóticos e apresentam o fenótipo dominante. Agora, podemos prever os resultados esperados pela 2ª Lei de Mendel para os cruzamentos-teste dos indivíduos F1 com indivíduos duplo-homozigóticos recessivos.

Mas como fazer para prever estes resultados? É bastante simples. A 2ª Lei de Mendel estabelece que os alelos de genes diferentes segregam-se independentemente durante a formação dos gametas de um indivíduo. Acompanhe a **Figura 13.1** para lembrar o comportamento dos cromossomos, e dos alelos de dois genes diferentes, durante a formação dos gametas.



**Figura 13.1:** Tipos de gametas formados por um indivíduo heterocigótico para dois genes localizados em cromossomos diferentes. Os tipos formados por cada célula meiótica dependem da associação dos cromossomos não homólogos durante a Metáfase I da divisão meiótica. Considerando todos os gametas de um indivíduo, espera-se encontrar 1/4 de cada tipo, pela lei da segregação independente.

Então, se você sabe os tipos e proporções de gametas formados por cada indivíduo, você poderá deduzir os genótipos produzidos pela associação dos gametas masculinos e femininos. Poderá deduzir também qual a proporção esperada de cada genótipo na prole, e qual a proporção fenotípica esperada na prole de qualquer cruzamento! Observe a **Figura 13.2**.



**Figura 13.2:** Proporção fenotípica esperada pela lei da segregação independente no cruzamento de indivíduos duplo-heterozigóticos com indivíduos duplo-homozigóticos recessivos (cruzamento-teste). Os gametas do **tipo parental** são aqueles que apresentam os mesmos arranjos de alelos encontrados nos gametas parentais, ao passo que os gametas **recombinantes** são aqueles que apresentam novas combinações de alelos. No caso de genes localizados em cromossomos diferentes, espera-se obter gametas com arranjos parentais e recombinantes na mesma frequência de 50% ( $1/4 + 1/4 = 1/2$ ), devido à associação independente dos alelos dos dois genes. Reveja como os gametas são formados na figura 13.1.

Seguindo essa figura, podemos deduzir que, para dois genes, a proporção fenotípica esperada na prole deste cruzamento-teste é **1:1:1:1**. Neste ponto pode surgir uma dúvida: na Aula 5, nós vimos que a proporção fenotípica esperada pela lei da segregação independente em um cruzamento diíbrido era **9:3:3:1**. Por que chegamos a uma proporção diferente? Nos cruzamentos diíbridos mostrados na Aula 5, a F1 era cruzada entre si (intercruzada) para produzir a geração F2. Portanto, você deve estar deduzindo que esta proporção de **9:3:3:1** é esperada em cruzamentos entre indivíduos heterozigóticos ( $AaBb \times AaBb$ ). Quanto aos cruzamentos mostrados no **Quadro 13.1**, os indivíduos da F1 foram cruzados com indivíduos duplo-homozigóticos ( $AaBb \times aabb$ ), resultando na proporção fenotípica esperada de **1:1:1:1** na prole de cada cruzamento-teste. Quando calculamos a proporção esperada em um cruzamento qualquer, devemos levar em conta o genótipo dos indivíduos parentais e que tipos de gametas são formados por cada indivíduo.



Atenção! Se você ainda tem alguma dúvida sobre a lei da segregação independente ou sobre como os gametas são formados durante a meiose, consulte as Aulas 5 e 6, com atenção especial para as Figuras 5.2 e 6.3. O pouco tempo que você gastará revendo estes conceitos terá o seu valor aumentado no futuro!

Agora, volte a analisar os resultados dos cruzamentos-teste no **Quadro 13.1**. Você poderia dizer se os resultados observados em cada cruzamento estão de acordo com o esperado pela lei da segregação independente?

No primeiro cruzamento-teste, o cruzamento das ervilhas que diferem quanto à cor e forma das sementes, os resultados observados se aproximam da proporção fenotípica esperada pela 2ª Lei de Mendel, de **1:1:1:1**.

Entretanto, quando analisamos os cruzamentos II e III, com drosófilas que diferem quanto à forma da asa e à cor do corpo, podemos dizer que os resultados observados em cada um desses dois cruzamentos não estão de acordo com os resultados esperados pela 2ª Lei de Mendel, já que apenas duas classes fenotípicas foram encontradas na prole de cada um desses cruzamentos-teste, na proporção aproximada de **1:1**. Note, ainda, que na prole de cada um desses cruzamentos-teste aparecem somente indivíduos com os mesmos fenótipos dos indivíduos parentais.

No cruzamento II foram encontrados apenas indivíduos selvagem-selvagem e *delta-ebony* na proporção de 1:1, enquanto no cruzamento III só foram encontrados indivíduos selvagem-*ebony* e *delta*-selvagem, na mesma proporção.

Como você explicaria a ocorrência desse desvio da proporção esperada? E por que os fenótipos encontrados nos indivíduos da prole de cada cruzamento-teste são os mesmos fenótipos dos indivíduos parentais?

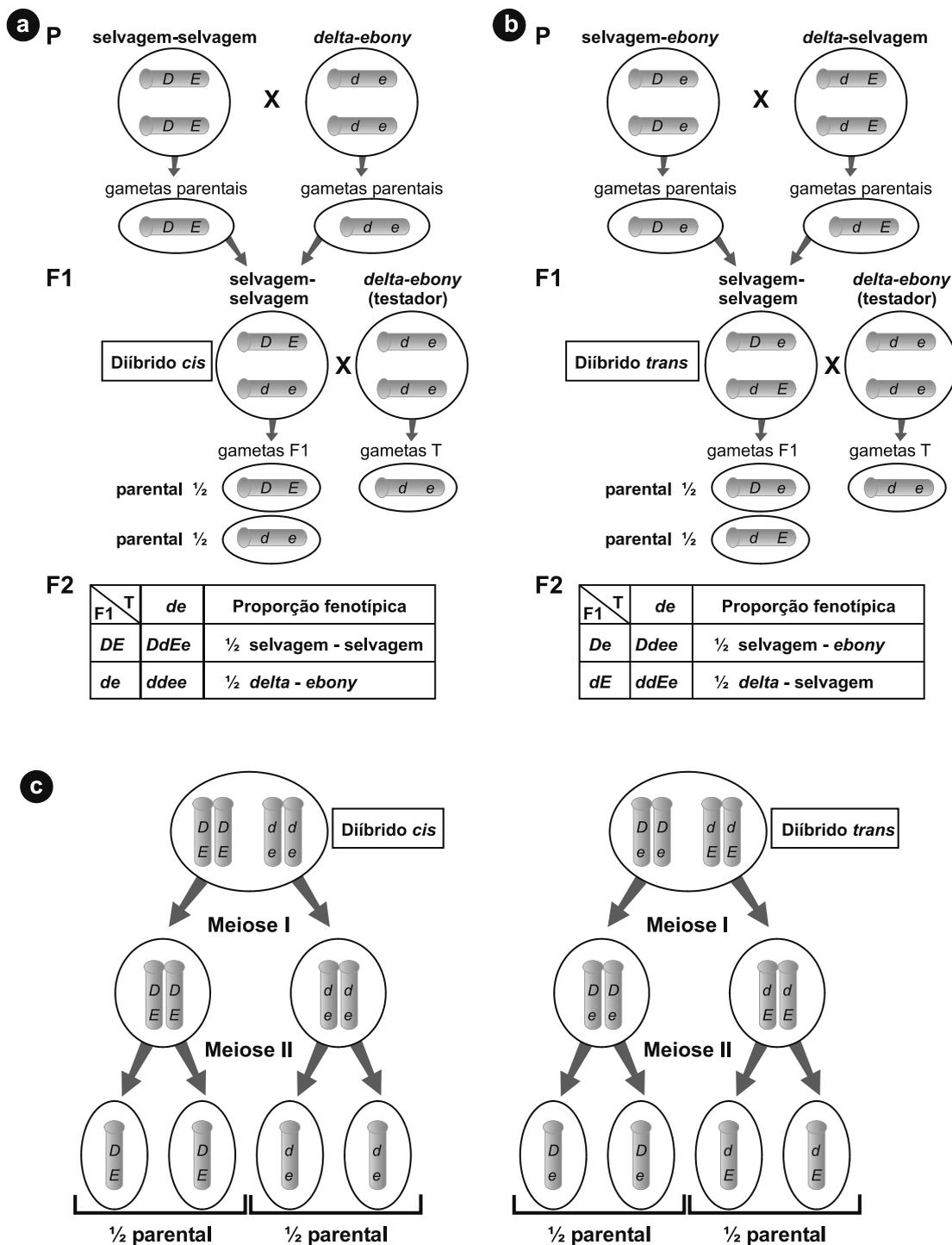
Em nenhum dos casos ocorreu a formação de gametas recombinantes na meiose dos indivíduos heterozigóticos da F1 e, por esse motivo, apenas classes fenotípicas parentais foram observadas na prole dos cruzamentos-teste. Considerando que os genes que condicionam a forma da asa e a cor do corpo estejam localizados no mesmo cromossomo, e assumindo a hipótese de Sutton de que genes localizados em um mesmo cromossomo são herdados juntos, podemos facilmente explicar a ausência das classes fenotípicas recombinantes nesses cruzamentos (Figura 13.3). Assim, a associação dos alelos de genes que se localizam em um mesmo cromossomo não é independente.



#### Fase de ligação: configuração cis (AB/ab) x configuração trans (Ab/aB)

É a maneira pela qual os alelos de um indivíduo duplo-heterozigótico estão dispostos no par de cromossomos homólogos em questão. Existe uma nomenclatura específica para cada fase de ligação. Chamamos de configuração cis, ou acoplamento, quando os indivíduos heterozigóticos recebem, de um dos seus progenitores, os dois alelos dominantes ligados em um cromossomo, enquanto os dois alelos recessivos ligados ao cromossomo homólogo são herdados do outro progenitor. Por sua vez, a configuração trans, ou repulsão, é observada quando os alelos dominantes se encontram em cromossomos homólogos diferentes, o mesmo ocorrendo com os alelos recessivos. Acompanhe a Figura 13.3.

Chamamos o evento da ligação entre genes de **ligação gênica**. Note que casos em que apenas indivíduos com fenótipos parentais são observados na prole dos cruzamentos, na proporção de 1:1, como nos cruzamentos II e III, são raros e constituem um tipo especial de ligação gênica, a **ligação completa**.



**Figura 13.3:** Resultados dos cruzamentos-teste em que os genes apresentaram ligação completa, isto é, a frequência de recombinação estimada foi 0%, pois nenhum recombinante foi formado. a) cruzamento que produz o diíbrido com configuração *cis*; b) cruzamento que produz o diíbrido com configuração *trans*; c) gametas produzidos por cada indivíduo diíbrido. Note que esse exemplo tem fins didáticos, sendo possível haver a formação de gametas recombinantes entre os genes *delta* e *ebony* em *Drosophila*.



**Edith Rebecca Saunders (1865-1945)**

Cientista inglesa, trabalhou com Bateson em alguns poucos experimentos no campo da Genética. No entanto, seu maior interesse era a anatomia e morfologia das flores, tema que investigou durante 15 anos.



**Reginald Crundall Punnett (1875-1967)**

Geneticista inglês que desempenhou um papel importante na associação das hipóteses mendelianas com cálculos estatísticos. Punnett desenvolveu um método para calcular as frequências genotípicas e fenotípicas esperadas em cruzamentos, conhecido como o “Diagrama de Punnett”.

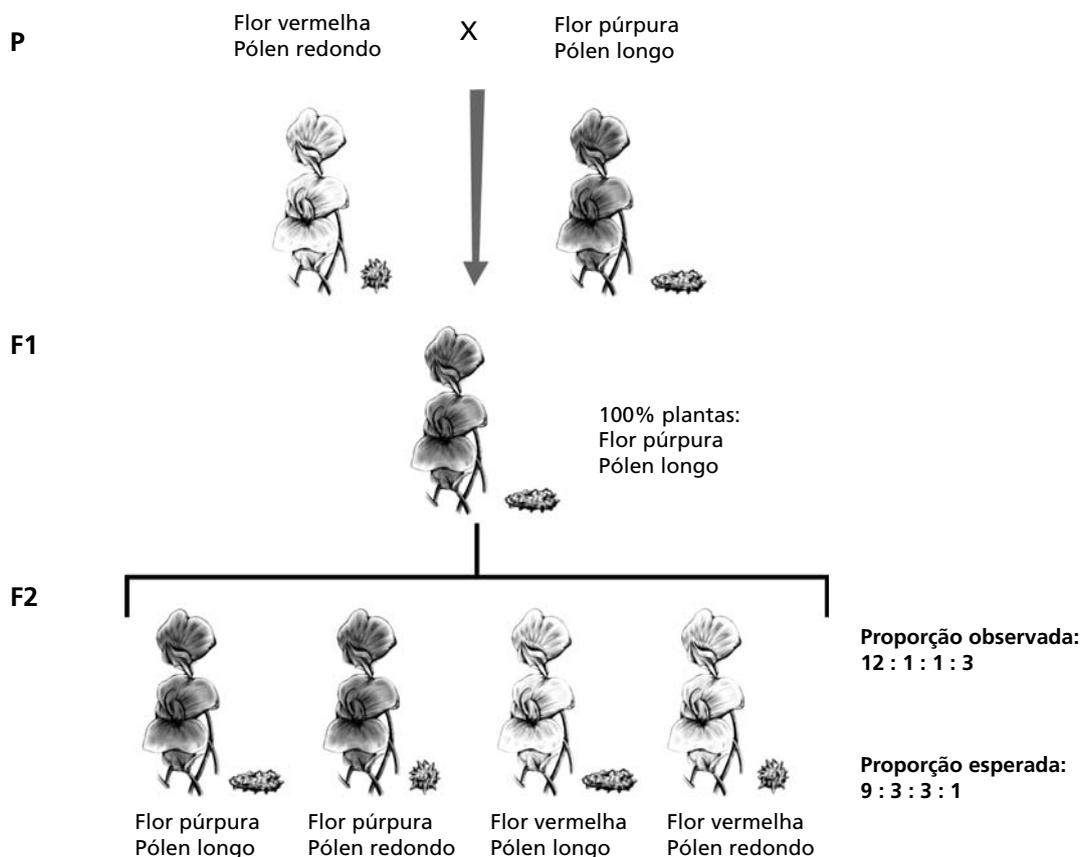
A representação dos alelos de genes ligados depende do arranjo desses alelos em cada cromossomo homólogo. Por convenção, os alelos que se encontram em um cromossomo são separados por uma barra daqueles localizados no cromossomo homólogo (*DE/de* ou *De/dE*, por exemplo). Indivíduos com os genótipos *DE/de* ou *De/dE* apresentam o mesmo fenótipo por serem heterozigóticos para os dois genes em questão. No entanto, dependendo do modo como os alelos estão dispostos no par de cromossomos homólogos, resultados diferentes podem ser produzidos em determinados cruzamentos. Observe a **Figura 13.3**.

A forma mais comum de ligação gênica é a **ligação incompleta**, onde, apesar de os genes estarem localizados no mesmo cromossomo, gametas recombinantes podem ser produzidos durante a meiose de indivíduos heterozigóticos. Como isto é possível? Veremos a seguir.

**A DESCOBERTA DA LIGAÇÃO GÊNICA**

William Bateson, Edith Saunders e Reginald Punnett foram os primeiros a descrever a ocorrência de desvios entre as proporções fenotípicas observadas e as proporções esperadas pela lei da associação ou segregação independente. Como você viu na Aula 6, Bateson foi um dos primeiros a aceitar as idéias mendelianas. Seu grupo de pesquisa passou a investigar a fundo os experimentos que representavam exceções a elas.

Em 1905, Bateson, Saunders e Punnett publicaram os resultados de experimentos em que cruzavam variedades de ervilhas-de-cheiro que diferiam quanto à cor da flor e ao tamanho do pólen. Um desses cruzamentos diíbridos apresentou o resultado que está ilustrado na **Figura 13.4**.



**Figura 13.4:** Cruzamento diíbrido entre variedades de ervilha-de-cheiro, realizado por Bateson e seus colaboradores.

Eles observaram que a proporção observada na F2 desse cruzamento não estava de acordo com a proporção fenotípica esperada pela 2ª Lei de Mendel para cruzamentos entre indivíduos duplo-heterozigóticos. Note que algumas classes apresentaram uma proporção maior do que a esperada, enquanto outras apresentaram uma proporção menor. Mas, para ter certeza de que se tratava de um caso de ligação gênica, Bateson e seus colaboradores realizaram cruzamentos-teste com os indivíduos da F1 (Quadro 13.2).

**Quadro 13.2:** Resultados dos cruzamentos-teste realizados por Bateson e colaboradores, entre variedades de ervilha-de-cheiro.

Características analisadas	Geração parental	Geração F1	Resultado do cruzamento-teste (F1 x duplo-homozigoto recessivo)
ERVILHA: cor da flor e tamanho do pólen	<p style="text-align: center;">I</p> <p>púrpura–longo x vermelho–redondo</p>	<p style="text-align: center;">100% púrpura–longo</p>	43,7% plantas púrpura–longo
			6,3% plantas púrpura–redondo
			6,3% plantas vermelho–longo
			43,7% plantas vermelho–redondo
	<p style="text-align: center;">II</p> <p>púrpura–redondo x vermelho–longo</p>	<p style="text-align: center;">100% púrpura–longo</p>	6,3% plantas púrpura–longo
			43,7% plantas púrpura–redondo
			43,7% plantas vermelho–longo
			6,3% plantas vermelho–redondo

No caso de cruzamentos-teste diíbridos, a proporção fenotípica esperada era de 1:1:1:1. No entanto, eles novamente observaram um desvio em relação à proporção esperada. Embora esses resultados não estivessem de acordo com a lei da segregação independente, proporções muito semelhantes eram encontradas sempre que Bateson e seus colaboradores repetiam os cruzamentos. Eles notaram que parecia existirem duas regras:

1. As classes fenotípicas mais comuns são dos tipos parentais e apareciam na frequência de 43,7% para cada classe.
2. As classes fenotípicas recombinantes também apresentavam frequências iguais (6,3% para cada classe), mas bem menores do que o esperado.

Bateson e seus colaboradores concluíram que os genes que condicionam estas duas características, de alguma forma, apresentavam um acoplamento. Contudo, este acoplamento não era total, pois classes fenotípicas recombinantes também foram observadas na prole desses cruzamentos.

A observação de que as classes recombinantes surgiam com frequência constante, mesmo quando os experimentos eram repetidos muitas vezes, sugeria a existência de uma causa, a ser descoberta, que explicasse esses resultados. Porém, Bateson, Saunders e Punnett não conseguiram imaginar uma hipótese que pudesse esclarecer, satisfatoriamente, a ocorrência desses casos: “(...) Nós não temos até o momento explicação alguma para esta diferença, e tudo o que pode ser dito é que nestes casos especiais a distribuição dos caracteres no heterozigoto é influenciada pela maneira como se encontram distribuídos nos parentais homozigóticos.”

O que poderia estar acontecendo, então? Nesta altura da aula, deve estar claro para você que nem a lei da segregação independente, nem a hipótese de Sutton de que os alelos do mesmo cromossomo devem ser herdados juntos explicam a ocorrência de classes recombinantes em cruzamentos envolvendo genes ligados. Foi então que, em 1911, surgiu na “sala das moscas” a hipótese que levou ao esclarecimento desse problema.

## **A HIPÓTESE DE MORGAN PARA A LIGAÇÃO INCOMPLETA: PERMUTA ENTRE CROMOSSOMOS**

Já no começo do século XX, **THOMAS MORGAN** e seus estudantes haviam descoberto dezenas de novas mutações nas drosófilas. Cada mutação nova era testada em cruzamentos diíbridos e, na maioria dos casos, a proporção fenotípica observada no intercruzamento da F1 estava de acordo com a proporção mendeliana esperada de 9 : 3 : 3 : 1. Neste casos, considerava-se que os genes envolvidos estavam segregando de maneira independente. Mas, em muitos outros casos, foram observados resultados semelhantes aos obtidos por Bateson.

A princípio, Morgan, como Bateson e seus colaboradores, não estava convencido da veracidade da hipótese suttoniana. Mas considerou-a e testou-a através dos estudos realizados com as drosófilas por seu grupo. Por fim, Morgan e seus colaboradores puderam comprovar que Sutton estava certo. Morgan percebeu que uma pequena modificação na hipótese de Sutton era o que faltava para explicar os fenômenos de acoplamento e repulsão.

### **THOMAS MORGAN (1866-1945)**

Geneticista americano que muito contribuiu para o estabelecimento dos fundamentos da Genética. Na Aula 6, você teve a oportunidade de conhecer um pouco da sua vida científica e de seus principais trabalhos. Morgan ganhou o Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina em 1933.

Em 1911, Morgan propôs uma nova hipótese: cada gene localizava-se em um local específico do cromossomo, hoje conhecido como *locus* ou *loco gênico*, e, através de pontos de ligação entre eles, ocorriam recombinações físicas entre segmentos dos cromossomos homólogos emparelhados durante a meiose. Conseqüentemente, essas trocas, chamada de permutas (*crossing-over*), poderiam levar à formação de gametas contendo cromossomos recombinantes. Se essa hipótese estivesse correta, haveria uma explicação precisa para o aparecimento das classes fenotípicas recombinantes nos cruzamentos diíbridos para genes ligados.

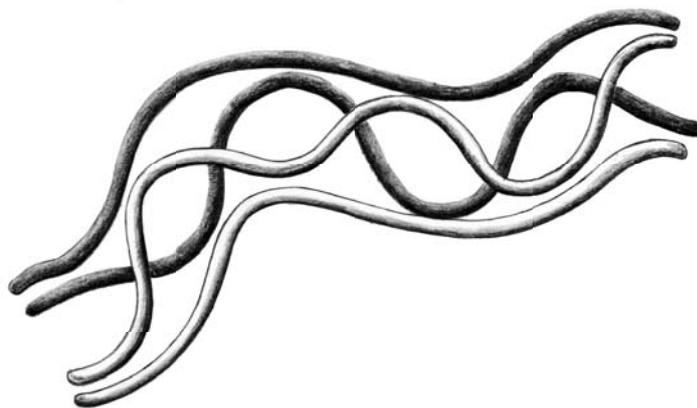
De fato, antes de propor sua hipótese, Morgan já havia encontrado uma observação citológica que parecia fornecer o mecanismo para explicar o surgimento de indivíduos recombinantes nos cruzamentos envolvendo genes ligados.

Pouco tempo antes, em 1909, o citologista Frans Alfons Janssens observou que os cromossomos homólogos duplicados e totalmente emparelhados freqüentemente formavam pontos de aparente união entre as cromátides não-irmãs durante a primeira divisão meiótica (Figura 13.5). Esses pontos de união foram chamados de **quiasmas** (do grego cruzamento). Contudo, Janssens não conseguiu demonstrar se ocorriam quebras nas cromátides e posterior religamento dos fragmentos cromossômicos de uma cromátide à outra. Naquela época, não havia como diferenciar visualmente os cromossomos homólogos nas preparações citológicas. Por esse motivo, mesmo que tivesse ocorrido permuta entre cromossomos homólogos, não haveria sinais visíveis de trocas entre as cromátides.



**FRANS ALFONS  
JANSSENS  
(1863-1924)**

Citologista belga que descobriu a formação de quiasmas em células meióticas.



**Figura 13.5:** Esquema de quiasmas formados entre as cromátides não-irmãs dos cromossomos homólogos emparelhados, durante a prófase da primeira divisão meiótica.

## A PROVA CITOLÓGICA DA PERMUTA ENTRE CROMOSSOMOS

As evidências definitivas de que ocorrem trocas de material entre cromossomos homólogos durante a meiose só foram publicadas vinte anos após Morgan ter proposto sua hipótese.

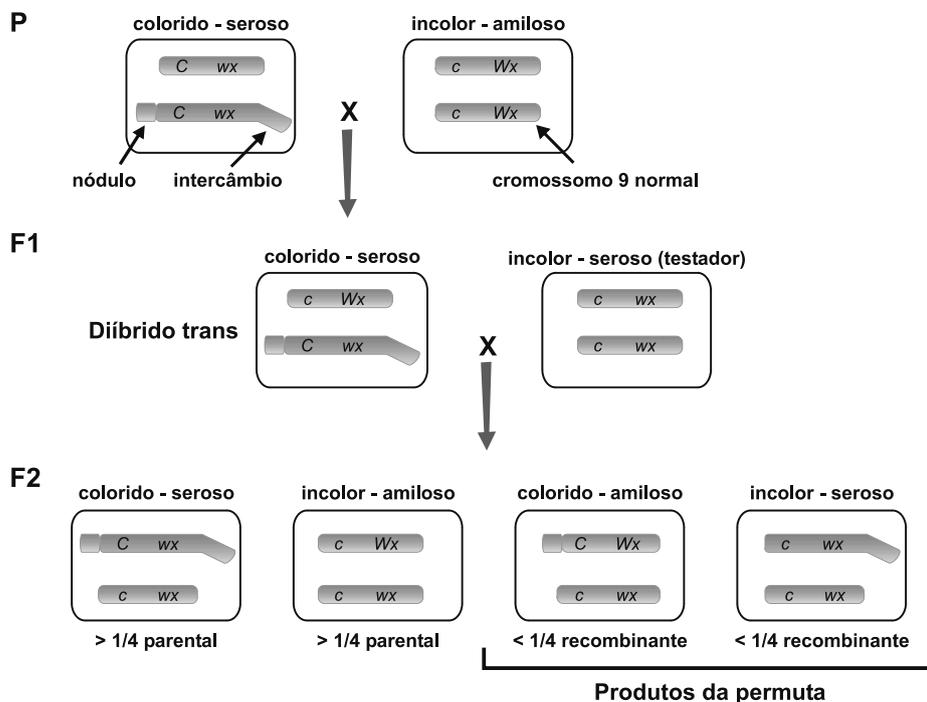
Em 1931, em um estudo com milho (*Zea mays*), Barbara McClintock, que também descobriu os elementos de transposição (Aula 8), e **HARRIET CREIGHTON** forneceram a primeira evidência de trocas físicas entre os cromossomos. Elas utilizaram uma linhagem especial na qual um cromossomo 9 era morfologicamente normal, enquanto seu homólogo possuía uma aberração citológica em cada extremidade: uma dilatação heterocromática chamada **nódulo** em uma ponta, e um trecho de um cromossomo diferente, denominado **intercâmbio**, na outra (Figura 13.6).

McClintock e Creighton realizaram um cruzamento-teste entre plantas dessa linhagem especial que eram duplo-heterozigóticas, em configuração trans, para dois genes que condicionavam as mutações visíveis, a cor do grão (*C*, colorido; *c* incolor) e textura do grão (*Wx*, amiloso; *wx*, ceroso), com plantas duplo-homozigóticas recessivas (*c wx/c wx*) de uma linhagem com ambos os cromossomos normais.



**HARRIET CREIGHTON**

Aluna de graduação de Barbara McClintock, trabalhou em uma série de experimentos que demonstraram que o fenômeno genético da recombinação possuía explicação celular.



**Figura 13.6:** Prova definitiva da ocorrência de trocas entre segmentos cromossômicos em uma espécie de milho. A análise citológica e fenotípica das plantas resultantes de um cruzamento-teste entre uma linhagem duplo-heterozigótica com aberrações cromossômicas e uma linhagem duplo-homozigótica recessiva com cromossomos normais demonstrou a existência de permuta entre cromossomos homólogos. Os centrômeros não foram representados apenas para facilitar a visualização do experimento. OBS: Esse esquema apresenta apenas as células utilizadas para o experimento.

O resultado esperado desse cruzamento-teste era que as plantas F1 das classes fenotípicas recombinantes possuísem, além de um cromossomo normal, um cromossomo recombinante com apenas uma das aberrações citológicas; a outra aberração deveria ter sido trocada com o cromossomo homólogo normal na meiose das plantas parentais heterozigóticas. Foi exatamente isso que elas observaram! Desse modo, conseguiram demonstrar que a permuta entre segmentos dos cromossomos homólogos poderia causar a recombinação entre genes ligados, resultando em indivíduos fenotipicamente recombinantes. Leia a última frase desse trabalho: “Estas evidências apontam para o fato de que a recombinação citológica ocorre e é acompanhada dos tipos (de cromossomos) esperados pela recombinação genética.”

Nesse mesmo ano, uma outra publicação comprovou, de maneira independente, o evento de trocas físicas entre cromossomos homólogos. Utilizando praticamente a mesma metodologia, **CURT STERN** também demonstrou que a formação de indivíduos recombinantes para genes ligados dependia da permuta entre segmentos cromossômicos. Ele analisou, citológica e fenotipicamente, o resultado de cruzamentos envolvendo uma linhagem díbrida de drosófilas com cromossomos morfologicamente distintos.

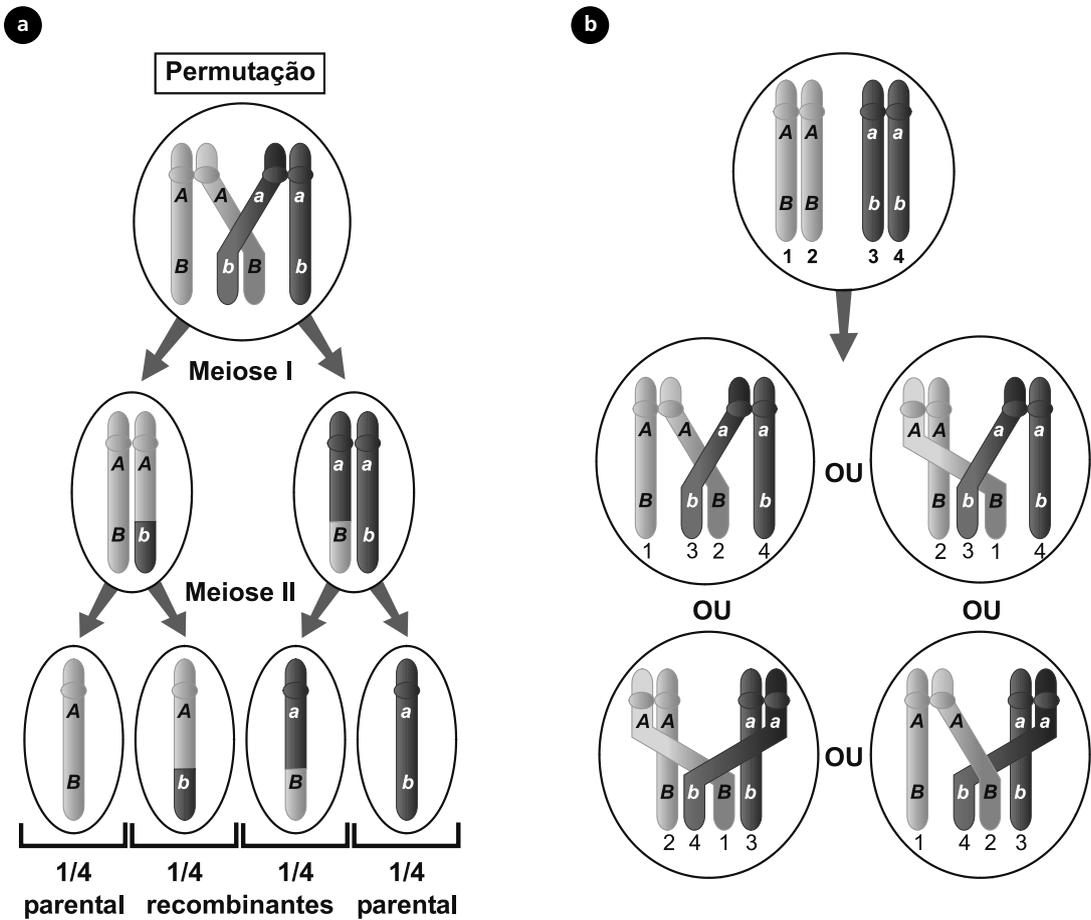
### PERMUTAÇÃO E FREQUÊNCIA DE RECOMBINAÇÃO

O processo de troca entre segmentos das cromátides não-irmãs dos cromossomos homólogos acontece no início da prófase da primeira divisão meiótica e é chamado de **permutação** (ou do inglês, *crossing-over*). A **Figura 13.7.a** apresenta um esquema de permuta envolvendo duas das cromátides não-irmãs. Note que uma célula que sofreu a permuta forma gametas parentais e recombinantes. No entanto, as permutas podem ocorrer entre quaisquer duas cromátides não-irmãs (**Figura 13.7.b**).



**CURT STERN  
(1902-1981)**

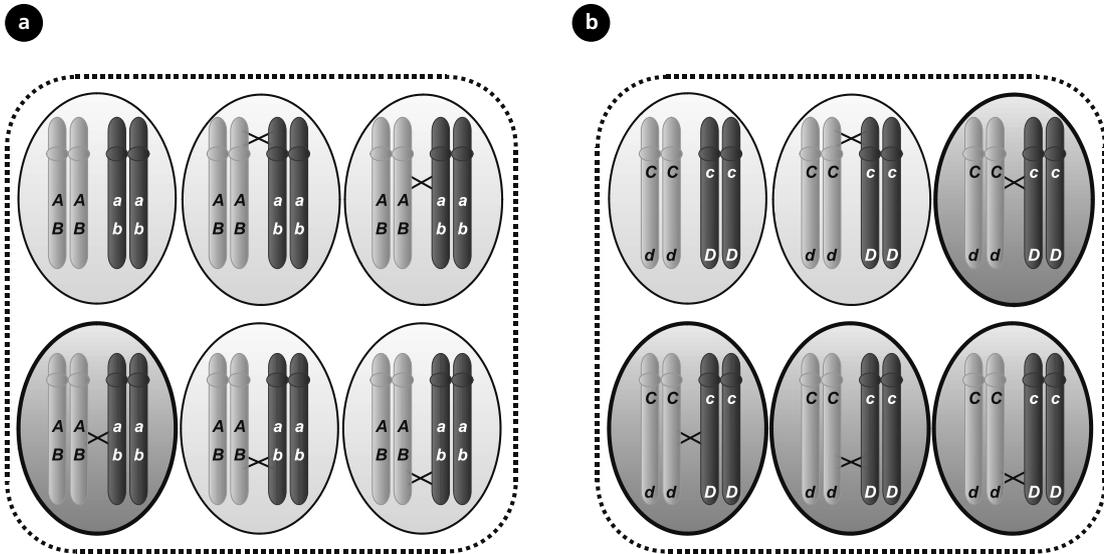
Geneticista alemão que, quase simultaneamente a McClintock e Creighton, demonstrou a ocorrência de trocas físicas entre cromossomos homólogos. Suas pesquisas subseqüentes resultaram em uma das primeiras demonstrações dos efeitos de compensação de dose e da existência de permuta em células somáticas, por exemplo.



**Figura 13.7:** a) Permutação, durante a meiose, entre cromossomos homólogos duplicados de um indivíduo heterozigótico para os genes ligados A e B. Após cada permuta são formados dois gametas com cromossomos recombinantes, devido à troca de segmentos entre cromátides não-irmãs, e dois gametas com cromossomos do tipo parental (cromátides não envolvidas na permuta). b) Todas as possibilidades de uma permutação entre cromátides não-irmãs, que foram numeradas para facilitar a visualização. Em todos os quatro casos, os tipos de gametas produzidos serão os mesmos da Figura 13.7.a.

Observe que, em cada célula meiótica onde houve permuta entre cromossomos homólogos, metade dos cromossomos e, como consequência, metade dos gametas serão recombinantes para os genes em questão. Se em todas as células meióticas de um indivíduo houver permutação entre dois genes ligados (100% de permutação), serão produzidos 50% de gametas recombinantes para esses genes. Portanto, a frequência de recombinação (FR) máxima entre dois genes quaisquer será 50%! Você se lembra de qual é a frequência de recombinação para dois genes com segregação independente? Volte à **Figura 13.2** e reflita um pouco.

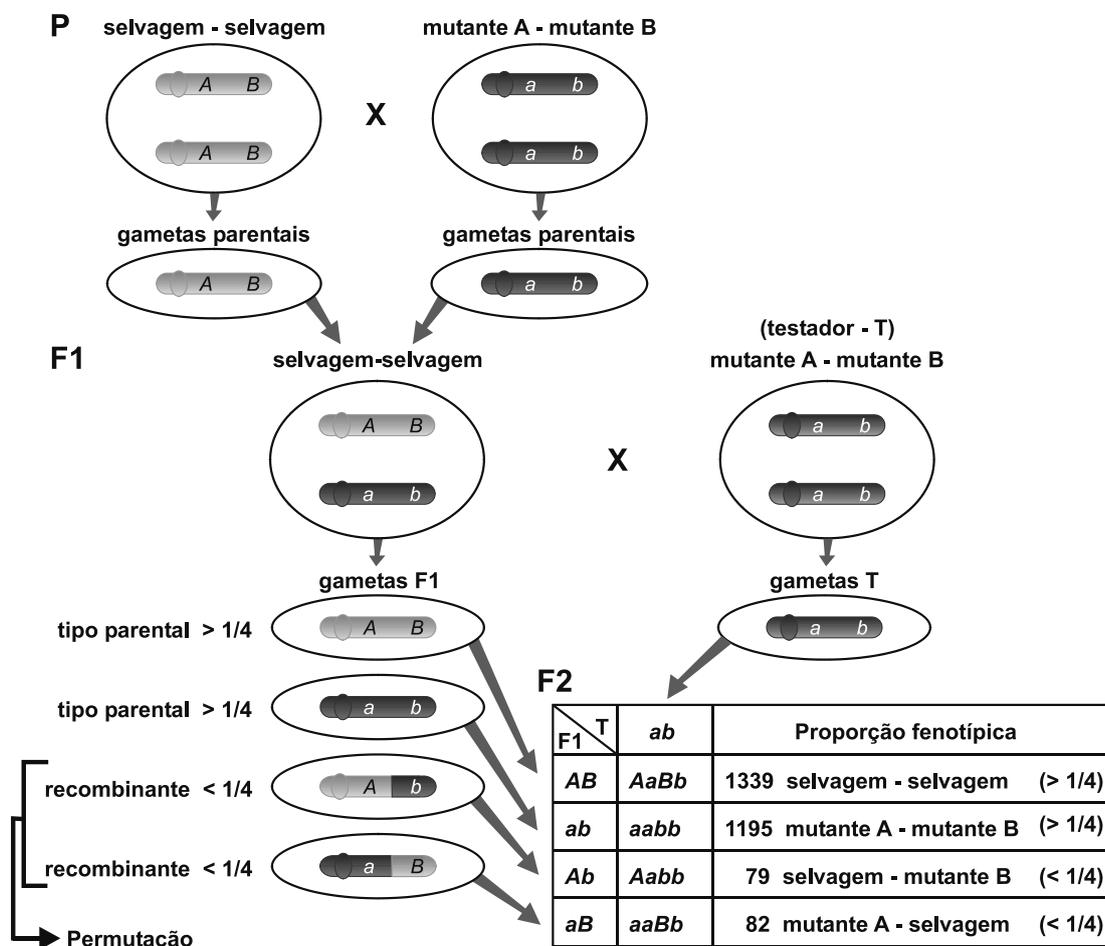
E como podemos fazer para calcular a FR entre dois genes ligados? Durante a divisão celular, quanto mais distantes, em um mesmo cromossomo, dois genes estiverem, maior a probabilidade de que ocorra uma permuta entre eles em cada uma das meioses que darão origem ao seu conjunto de gametas. Logo, maior será a frequência com que serão produzidos os gametas recombinantes. Acompanhe a **Figura 13.8**.



**Figura 13.8:** a) Exemplos de permutação em algumas células em divisão meiótica de um indivíduo duplo-heterozigótico para os genes A e B próximos entre si. b) Exemplos de permutação em algumas células meióticas de um indivíduo duplo-heterozigótico para os genes C e D, não tão próximos entre si. Nas células em destaque houve permutação entre os genes envolvidos.

É importante ressaltar que a FR depende do número de meioses onde houve permuta entre os genes em questão. Analisando a **Figura 13.8**, podemos concluir que, quanto mais distantes estiverem os genes, maior será a frequência com que ocorrem os eventos de permuta entre eles e, conseqüentemente, maior será a FR. Ao passo que, se os genes estão muito próximos, raramente ocorrerão eventos de permuta entre esses genes, como podemos ver na **Figura 13.8.a**.

Veja que legal! Não é possível ver os genes, mas é possível fazer uma estimativa da distância entre dois genes que estão em um mesmo cromossomo através da frequência de indivíduos com fenótipo recombinante que surgem na prole de um cruzamento-teste. Observe a **Figura 13.9**.



**Figura 13.9:** Proporção fenotípica esperada para genes com ligação incompleta em um cruzamento-teste de indivíduos duplo-heterozigóticos para os genes hipotéticos A e B. Os gametas recombinantes são produzidos através da permutação durante a meiose de algumas das suas células germinativas. Note que, no caso de genes com ligação incompleta, a frequência de recombinação é menor do que 50%, já que a produção dos gametas recombinantes depende da ocorrência de um evento de permutação exatamente entre os genes envolvidos.

A FR é calculada através da porcentagem de indivíduos com fenótipos recombinantes, ou seja, a porcentagem de indivíduos com fenótipos diferentes dos fenótipos das linhagens parentais. Para chegar a esse valor, precisamos somar o número de indivíduos observados nas duas classes fenotípicas recombinantes: selvagem-mutante B e mutante A-selvagem, e dividir essa soma pelo total de indivíduos analisados (2.695 indivíduos). Assim, FR entre A e B =  $(79 + 82) / 2.695 = 0,06$  ou 6,0%.

Foi Alfred Sturtevant, um aluno de Thomas Morgan, quem primeiro imaginou essa relação entre a FR e a distância física entre genes ligados em 1911. Ele acreditava, baseado em estudos de outros bons cientistas, que os genes estavam organizados de maneira linear nos cromossomos, cada um em seu *locus*, e que os eventos de permutação ocorriam aleatoriamente ao longo dos cromossomos. Genes mais distantes em um mesmo cromossomo apresentariam uma FR maior em relação a genes que estão mais próximos entre si. Através dessa hipótese, ele poderia explicar por que existiam diferenças nas frequências de recombinação entre pares de genes diferentes. Essa hipótese foi devidamente avaliada, como você verá na próxima aula.

Hoje sabemos que o evento de permutação não é totalmente aleatório, mas existe uma boa concordância entre os resultados de experimentos que envolvem os mesmos genes. Assim, podemos trabalhar com as FR quando entendemos que essas frequências são na verdade estimativas do número de eventos de permutação que ocorrem nas células em divisão meiótica de um indivíduo, e não o número real.

Os eventos de permutação também ocorrem quando os alelos estão em homozigose, mas nesse caso não podemos identificar a recombinação no fenótipo dos indivíduos. Devemos ter sempre em mente que o geneticista muitas vezes depende da existência de diferenças genéticas nas populações para desenvolver suas análises.

### A IMPORTÂNCIA DA PERMUTA

A seleção natural ou artificial de fenótipos só é eficiente se as diferenças fenotípicas observadas entre os indivíduos forem, essencialmente, determinadas por diferenças genéticas que sejam transmitidas às próximas gerações. Por isso, a existência de variação genética herdável nas populações é fundamental para que a seleção seja efetiva. Existem dois processos que podem produzir variação genética em uma população: a mutação e a recombinação. A mutação é o processo pelo qual surgem alelos novos na população, seja de maneira espontânea ou como resultado da exposição dos indivíduos a agentes mutagênicos no ambiente. Por outro lado, a associação independente dos alelos de genes localizados em cromossomos diferentes ou a permutação no caso de genes ligados cria novas combinações entre os alelos de diferentes genes.

Mas a permuta tem uma outra função muito importante. Ela participa da manutenção do emparelhamento dos cromossomos homólogos durante a meiose reducional. Nessa etapa da formação dos gametas, é fundamental que os cromossomos homólogos estejam emparelhados para que haja a distribuição correta dos cromossomos para as células que formarão os gametas haplóides.

Atualmente, a maioria dos geneticistas considera que os quiasmas observados nas células meióticas representam apenas vestígios do processo de permutação. Portanto, essas estruturas seriam formadas como consequência desse processo, e não como causa da permutação, como se imaginava anteriormente. Em outras palavras, é a permuta entre as cromátides que dá origem aos quiasmas observados nas preparações citológicas.

Mas, ainda hoje não sabemos exatamente como ocorre a quebra das cromátides durante a permutação. Sabe-se que algum tipo de processo celular é responsável pela quebra das cromátides não-irmãs de cromossomos homólogos, na mesma posição relativa, e sua posterior união em uma nova combinação, sem que haja perda ou ganho de material. Já existem modelos que explicam como este processo acontece, mas ainda faltam as evidências que nos permitam identificar com clareza qual é a base molecular da permutação.



#### Permutação mitótica

Surpreendentemente, os geneticistas descobriram que a permuta pode ocorrer, algumas vezes, durante a mitose de células somáticas em organismos diplóides. Imagina-se que esta permuta ocorra quando os cromossomos homólogos são, por acaso, emparelhados nas células somáticas em divisão. Este é um processo raro, mas é importante para alguns organismos assexuados como forma de produzir variabilidade genética. Além disso, estudos com alguns tipos de câncer humano mostraram que este processo faz com que mutações recessivas causadoras da doença se expressem.

## OS GRUPOS DE LIGAÇÃO

Uma propriedade interessante da análise da FR é a previsão do número de indivíduos que esperamos encontrar, em cada classe fenotípica, nos cruzamentos envolvendo genes ligados. Por exemplo, se a FR entre dois genes é 30%, para cada 100 indivíduos esperamos encontrar 15 em cada uma das classes recombinantes ( $0,30/2$ ) e 35 em cada uma das classes parentais ( $100\% - 30\% = 70\%$ ;  $0,70/2 = 35$ ). Desse modo, após calcularmos a FR entre dois genes em um experimento, podemos utilizar esse valor para prever os resultados esperados em cruzamentos futuros.

A análise da frequência de recombinantes em cruzamentos-teste nos oferece, também, uma simples e importante ferramenta para a identificação dos genes que pertencem a cromossomos específicos de um organismo. Vimos que a FR máxima entre dois genes ligados quaisquer é 50%. Assim, todos os pares de genes muito distantes em um mesmo cromossomo apresentarão essa mesma FR. Além disso, a frequência com que são formados os gametas recombinantes para genes que se localizam em cromossomos diferentes, ou seja, para genes que possuem segregação independente, também é 50%. Podemos concluir, portanto, que ao observarmos uma FR de 50% na análise de dois genes, não seremos capazes de identificar se esses genes estão ligados, porém muito distantes entre si, ou se estão em cromossomos diferentes, segregando independentemente.

A solução para essa questão é analisar um maior número de genes até que o conjunto de informações permita a construção de **grupos de ligação** na espécie estudada.

Um **grupo de ligação** corresponde ao conjunto de genes presente em um cromossomo. Ou seja, cada par de genes ligados pode ser associado a um grupo de genes que possuem ligação uns com os outros. Por exemplo, a espécie *Drosophila melanogaster* possui quatro pares de cromossomos e, por esse motivo, existem no máximo quatro grupos de ligação nessa espécie. Quando surgem novas mutações, os genes que causam os fenótipos mutantes podem ser associados a um dos grupos de ligação já descritos para o organismo em questão.

### INFORMAÇÕES SOBRE A PRÓXIMA AULA

Você verá que a descoberta da ligação gênica abriu um grande campo de estudos para os geneticistas. Os estudos do grupo de Morgan sobre a permutação cromossômica e, conseqüentemente, a recombinação gênica levaram ao desenvolvimento de técnicas para a identificação da distância entre os genes de um mesmo cromossomo e, assim, mapas genéticos dos mais diversos organismos puderam ser construídos.

## RESUMO

A descoberta de que os genes nem sempre são herdados de acordo com a lei da segregação independente desencadeou uma série de estudos sobre como ocorre a segregação dos alelos em mais de um gene. Quando ocorrem esses desvios em relação ao esperado pela 2ª Lei de Mendel, os genes envolvidos são chamados de **genes ligados** e a explicação para este fato é que eles estão localizados no mesmo par de cromossomos homólogos.

Existem dois tipos de ligação entre genes: a **ligação completa**, quando na prole de um cruzamento-teste são encontrados somente indivíduos com os fenótipos parentais; e a **ligação incompleta**, quando são encontrados indivíduos com os fenótipos parentais e recombinantes. Os indivíduos recombinantes são produzidos quando ocorre um processo de troca entre segmentos cromossômicos durante a meiose, processo chamado de **permutação**. Nas células onde durante a meiose houve permutação entre os cromossomos homólogos, metade dos cromossomos e, portanto, metade dos gametas serão do tipo recombinante e metade do tipo parental.

A formação de gametas recombinantes está diretamente relacionada à distância entre genes ligados. Durante a divisão celular, quanto mais distantes, em um mesmo cromossomo, dois genes estiverem, maior a probabilidade de que ocorra uma permutação entre eles e, conseqüentemente, maior será a freqüência com que são produzidos os gametas recombinantes para estes genes. Assim, podemos estimar a freqüência de permutação entre dois genes ligados através da análise da freqüência de indivíduos recombinantes obtidos em cruzamentos-teste para os genes em questão.

Por fim, a freqüência de recombinação também pode ser utilizada para uma previsão do número de indivíduos que esperamos encontrar em cada classe fenotípica em cruzamentos envolvendo genes ligados; para a identificação dos grupos de ligação, ou seja, dos grupos de genes que pertencem a cromossomos específicos de um organismo; e para calcular as distâncias entre genes localizados no mesmo cromossomo, como veremos na próxima aula.

## EXERCÍCIOS

1. Preencha os espaços em branco nas frases utilizando o termo mais apropriado dentre os arrolados abaixo, (Cada opção pode ser utilizada mais de uma vez):

- |                               |                              |
|-------------------------------|------------------------------|
| ( a ) configuração cis        | ( g ) permutação             |
| ( b ) ligação incompleta      | ( h ) quiasma                |
| ( c ) ligação gênica          | ( i ) sinapse                |
| ( d ) recombinação            | ( j ) aberração cromossômica |
| ( e ) grupo de ligação gênica | ( k ) cromossomos homólogos  |
| ( f ) configuração trans      | ( l ) cromátides-irmãs       |

- ( ) é qualquer processo que ocorre em uma célula diplóide e produz combinações gênicas ou cromossômicas não encontradas naquela célula ou nos seus progenitores.
- ( ) é um processo pelo qual ocorre troca de pedaços correspondentes entre cromossomos homólogos. Esse processo pode resultar na produção de indivíduos recombinantes.
- A condição na qual um indivíduo duplo-heterozigótico ( $Ab/aB$ ) recebeu de cada um dos pais um alelo mutante de um dos genes associado a um alelo selvagem do outro é denominada ( ) ou repulsão.
- ( ), verificada por Bateson, Saunders e Punnett em seus experimentos com ervilha-de-cheiro, consistia na ocorrência de uma certa porcentagem de indivíduos com fenótipos recombinantes, isto é, com fenótipos diferentes dos parentais.
- ( ) são os pares de filamentos idênticos, unidos pelos centrômeros, que resultam da autoduplicação de um cromossomo, durante o processo de divisão celular.
- ( ) ou acoplamento é a condição presente em um indivíduo duplo-heterozigótico ( $AB/ab$ ), no qual os 2 alelos mutantes associados são provenientes de um de seus progenitores, e os seus respectivos alelos selvagens, do outro.
- ( ) é uma estrutura em forma de cruz, observada entre cromátides homólogas durante a meiose, e que resulta de um processo denominado ( ).
- Um ( ) é um conjunto de locos gênicos fisicamente conectados e que, portanto, não se segregam independentemente.



5. Um indivíduo duplo-heterozigótico ( $AaBb$ ) para dois pares de alelos que determinam duas características é cruzado com um duplo-recessivo ( $aabb$ ) e produz apenas dois tipos de descendentes, na proporção 1 dominante para a primeira das características e recessivo para a segunda : 1 recessivo para a primeira e dominante para a segunda. Estes resultados são indicativos de ( ) entre os alelos  $A$  e  $b$  e entre  $a$  e  $B$ .

6. Por que dois genes que estão muito afastados em um mesmo cromossomo são herdados como se tivessem segregação independente, isto é, uma taxa de recombinação de cerca de 50%?

7. Drosófilas de uma linhagem pura com asas vestigiais e presença de aristas (estruturas ramificadas presentes nas antenas) foram cruzadas com outras, também de linhagem pura, com asas longas e ausência de aristas. Na prole desse cruzamento foram observados apenas indivíduos com asas longas e presença de aristas. O resultado de um cruzamento-teste realizado com as moscas da geração F1 está mostrado no quadro abaixo:

Fenótipo	Nº de indivíduos
asas vestigiais e presença de aristas	282
asas vestigiais e ausência de aristas	297
asas longas e presença de aristas	301
asas longas e ausência de aristas	290

- Quais fenótipos são parentais e quais são recombinantes?
- Qual é a frequência de recombinação?
- Qual o genótipo de cada um dos fenótipos envolvidos no experimento?
- Segundo a lei da segregação independente, qual a proporção fenotípica esperada na prole desse cruzamento?
- Os resultados observados estão de acordo com o esperado? E o que isto significa?
- Através da análise dos dados desse cruzamento, você pode concluir que os genes que condicionam os fenótipos analisados estão localizados em cromossomos diferentes? Ou estes genes estão no mesmo cromossomo (genes ligados)?

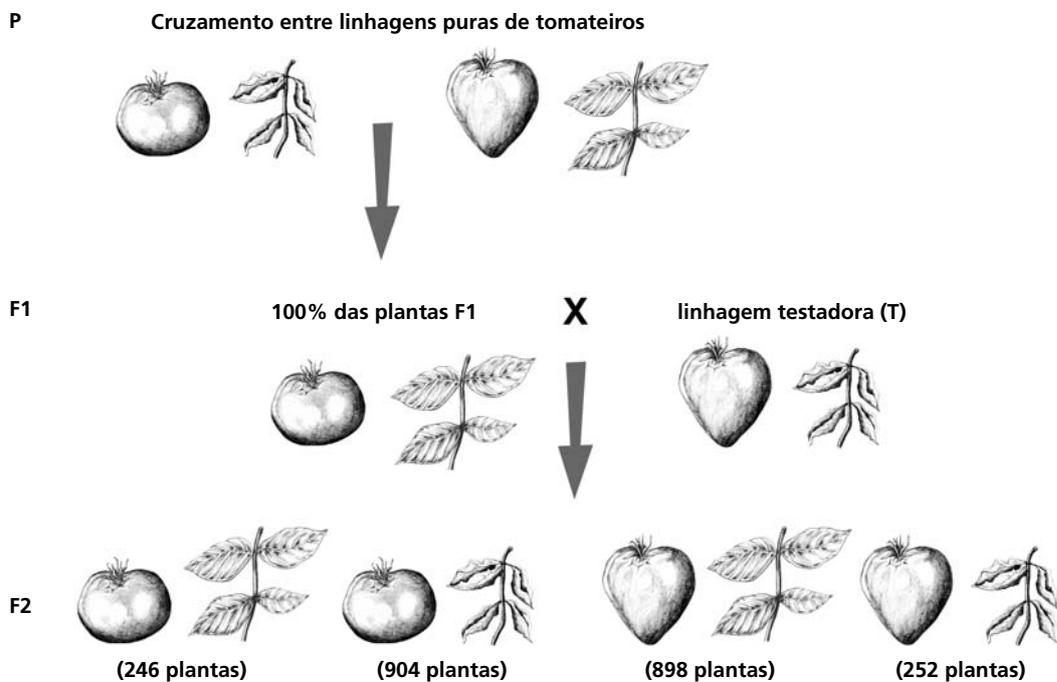
8. Drosófilas de uma linhagem pura com asas vestigiais e olhos marrons foram cruzadas com outras, também de linhagem pura, com asas longas e olhos vermelhos. Na prole desse cruzamento foram observados apenas indivíduos com asas longas e olhos vermelhos. O resultado de um cruzamento-teste realizado com as moscas da geração F1 está mostrado no quadro a seguir:

Fenótipo	Nº de indivíduos
Asas vestigiais e olhos marrons	440
Asas vestigiais e olhos vermelhos	58
Asas longas e olhos marrons	67
Asas longas e olhos vermelhos	455

- a) Quais fenótipos são parentais e quais são recombinantes?
  - b) Qual é a frequência de recombinação?
  - c) Qual o genótipo de cada um dos fenótipos envolvidos no experimento acima?
  - d) Segundo a lei da segregação independente, qual a proporção fenotípica esperada na prole desse cruzamento?
  - e) Os resultados observados estão de acordo com o esperado? E o que isto significa?
  - f) Através da análise dos dados deste cruzamento, você pode concluir que os genes que condicionam os fenótipos analisados estão localizados em cromossomos diferentes? Ou esses genes estão no mesmo cromossomo (genes ligados)?
9. Se você soubesse que os genes envolvidos nos cruzamentos dos Exercícios 7 e 8 estão localizados no mesmo cromossomo, e que o fenótipo asas vestigiais encontrado nos dois exercícios é condicionado pelo mesmo gene, a que conclusão você poderia chegar em relação à distância entre esses genes, ou seja, você poderia definir que genes estão mais distantes e que genes estão mais próximos?

10. Observe os cruzamentos entre linhagens de uma espécie de tomate que diferem quanto a dois caracteres, e determine:

- a) Quais são os genótipos de cada um dos fenótipos encontrados neste experimento.
- b) Se os genes envolvidos estão ligados ou não.





# Mapeamento cromossômico

# AULA 14

## objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Compreender como utilizar as frequências de recombinação para mapear genes nos cromossomos.
- Reconhecer a importância dos mapas cromossômicos.

### Pré-requisito

Possuir noções básicas de testes de hipótese: teste do qui-quadrado ( $\chi^2$ ).

## INTRODUÇÃO

Existe um grande interesse em determinar a posição de um gene dentro do genoma de um organismo. Uma localização precisa permite a realização de diversas análises genéticas que podem, inclusive, levar à identificação da proteína que esse gene codifica. Além disso, quando temos a informação do posicionamento dos genes, a construção de linhagens com fenótipos específicos, para fins experimentais ou econômicos, torna-se muito mais simples.

Logo após a descoberta da ligação gênica, no começo do século XX, não havia meios para determinar a localização de genes nos cromossomos, muito embora os cromossomos já pudessem ser observados ao microscópio. No entanto, Thomas Morgan propôs uma hipótese que serviu de base para a primeira demonstração de como os genes estão arranjados nos cromossomos. Morgan imaginou que os genes deveriam possuir locais definidos nos cromossomos, estando organizados em uma ordem linear, e que a frequência de recombinação entre dois genes dependeria da distância linear entre eles.

Motivado pelas idéias de Morgan, um de seus alunos de graduação, Alfred Sturtevant, desenvolveu um método matemático para mapear genes em cromossomos, utilizado até hoje. Esse método tem por base o princípio, bastante simples, da soma de distâncias lineares.

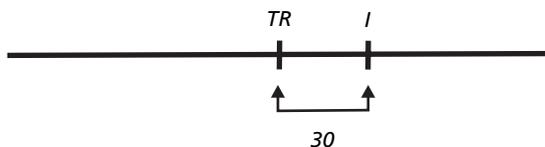
### Distâncias lineares

Imagine que você possui alguns dados relacionados a uma viagem pela rodovia BR-040 (**Quadro 14.1**). Como você faria para localizar estas cidades em um mapa de viagem, determinando a posição de cada cidade em relação às outras?

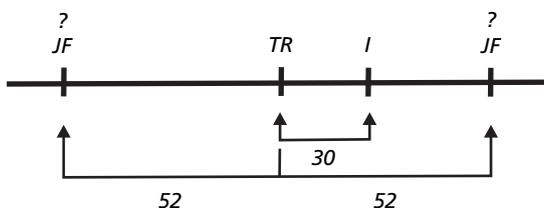
**Quadro 14.1:** Distância, em quilômetros, entre cidades interligadas pela rodovia BR-040.

<i>Cidades</i>	<i>Distância (em km)</i>
<i>Três Rios–Itaipava (TR–I)</i>	<i>30</i>
<i>Juiz de Fora–Três Rios (JF–TR)</i>	<i>52</i>

Com base na distância, vamos esquematizar a posição relativa entre essas cidades em uma linha reta imaginária, correspondente à rodovia BR-040. Primeiro, vamos colocar nessa reta a distância entre Três Rios (TR) e Itaipava (I):

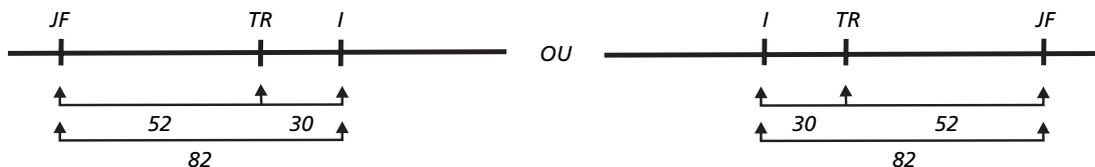


E quanto ao posicionamento de Juiz de Fora (JF)? Sabemos que a distância entre Três Rios e Juiz de Fora é de 52km, mas existem duas possibilidades para a posição relativa de Juiz de Fora, à direita ou à esquerda de Três Rios:



Para resolver esse problema, precisamos da distância entre Itaipava e Juiz de Fora (I–JF). Se Juiz de Fora estiver localizada à direita de Três Rios, a distância I–JF corresponderá à diferença entre as distâncias JF–TR e TR–I ( $52 - 30 = 22\text{km}$ ). Por sua vez, se Juiz de Fora estiver localizada à esquerda de Três Rios, a distância I–JF corresponderá a soma entre as distâncias JF–TR e TR–I ( $52 + 30 = 82\text{km}$ ).

Se você soubesse que a distância entre Itaipava e Juiz de Fora é de 82km, poderia concluir que Juiz de Fora se localiza à esquerda de Três Rios. Note que a posição relativa entre essas cidades seria a mesma se tivéssemos posicionado Itaipava à esquerda de Três Rios, no começo do mapeamento.



Poderíamos ter iniciado o mapeamento utilizando a distância entre Juiz de Fora e Três Rios ou entre Itaipava e Juiz de Fora, em vez da distância entre Três Rios e Itaipava? Sim. Quando sabemos as distâncias lineares entre mais de dois pontos, podemos estimar suas posições relativas começando por qualquer uma dessas distâncias. Se você ainda tem alguma dúvida de que isto seja possível, tente estimar as posições relativas entre estas cidades começando pelas distâncias JF–TR ou I–JF.

Agora, utilize as distâncias mostradas no **Quadro 14.2** para estimar as posições relativas das cidades de Carandaí e Barbacena em relação às cidades já mapeadas, complementando o seu mapa de viagem pela rodovia BR-040. Além disso, calcule as distâncias que faltam para completar o **Quadro 14.2**. Lembre-se de que as distâncias lineares podem ser somadas ou subtraídas!

**Quadro 14.2:** Distância entre outras cidades interligadas pela rodovia BR-040.

Cidades	Distância (em km)
Três Rios – Itaipava (TR–I)	30
Juiz de Fora – Três Rios (JF–TR)	52
Itaipava – Juiz de Fora (I–JF)	82
Três Rios – Carandaí (TR–C)	192
Juiz de Fora – Carandaí (JF–C)	140
Barbacena – Itaipava (B–I)	181
Juiz de Fora – Barbacena (JF–B)	99
Barbacena – Carandaí (B–C)	
Três Rios – Barbacena (TR–B)	
Itaipava – Carandaí (I–C)	

Como você viu, uma maneira bem simples para mapear pontos em linha é utilizar a informação da distância linear entre três pontos. Por exemplo, você pode determinar a posição de Carandaí utilizando a informação das distâncias TR–C, JF–C e a distância já mapeada JF–TR.

## FREQÜÊNCIA DE RECOMBINAÇÃO E O PRIMEIRO MAPA CROMOSSÔMICO

Voltando ao nosso assunto: em 1911, Thomas Morgan imaginava que os genes estavam organizados em uma ordem linear ao longo dos cromossomos, e que a frequência de recombinação entre dois genes dependeria da distância linear entre eles.

**ALFRED STURTEVANT**, um estudante de graduação que trabalhava na “sala das moscas”, reconheceu que poderia usar a frequência de recombinação como uma medida da distância linear entre dois genes. Em um trabalho posterior, chamado *A history of genetics* (1965), ele escreveu: “Na última parte de 1911, em conversa com Morgan, de repente percebi que as variações na força da ligação, já atribuídas por Morgan à separação espacial dos genes, ofereciam a possibilidade de determinação de seqüências na dimensão linear de um cromossomo. Fui para casa e passei a maior parte da noite (em prejuízo de minha tarefa de graduação) produzindo o primeiro mapa cromossômico (...)”.

Sturtevant (1913) propôs que “Se a hipótese de Morgan estiver correta, a proporção de recombinantes pode ser usada como um indicador da distância entre dois **FATORES** quaisquer. Ao se determinar as distâncias entre A e B e entre B e C, pode-se prever a distância entre A e C. Se a proporção de recombinantes realmente representar a distância entre os **FATORES**, a distância AC deve ser, aproximadamente, a soma entre as distâncias AB e BC, ou sua diferença, e não qualquer valor intermediário.”

Deste modo, Sturtevant construiu o primeiro **MAPA CROMOSSÔMICO** com os dados disponíveis sobre vários cruzamentos realizados pelos pesquisadores daquele laboratório.



### ALFRED HENRY STURTEVANT (1891-1970)

Autor do primeiro mapa cromossômico, este geneticista americano tinha como principal interesse o estudo da hereditariedade, mas também fez observações importantes em outras áreas, junto com grandes pesquisadores como Theodosius Dobzhansky.

### FATORES

Era o termo usado na época para designar genes.

### MAPA CROMOSSÔMICO

Também chamado de **mapa de ligação gênica** ou **mapa genético**, identifica a ordem dos genes nos pares de cromossomos homólogos de um organismo e determina a distância entre os genes analisados.

Para ter certeza de que os genes presentes em seu mapa estavam localizados no mesmo cromossomo, Sturtevant utilizou apenas caracteres que apresentaram, em experimentos anteriores, um padrão de herança ligado ao cromossomo X de *Drosophila melanogaster*. No **Quadro 14.3** estão mostradas as freqüências de indivíduos recombinantes obtidos em alguns dos cruzamentos diíbridos realizados. As análises foram feitas para 5 genes, sendo um para a cor do corpo (*yellow* = *y*), dois para a cor dos olhos (*white* = *w*, e *vermilion* = *v*) e dois para tamanho alterado das asas (*miniature* = *m*, e *rudimentary* = *r*). As freqüências de recombinantes foram obtidas considerando-se dois genes de cada vez. Se você não lembra como identificar a freqüência de indivíduos com fenótipo recombinante a partir de cruzamentos-teste, reveja esse tópico na Aula 13.

**Quadro 14.3:** Freqüências de indivíduos recombinantes (FR) obtidas a partir de cruzamentos realizados pela equipe de Morgan. Uma unidade de mapa (u.m.) corresponde a 1% de indivíduos recombinantes.

Recombinantes	FR	u.m.
entre y e v	30,7%	30,7
entre y e m	33,7%	33,7
entre v e m	3,0%	3,0
entre y e w	1,0%	1,0
entre w e v	29,7%	29,7
entre v e r	26,9%	26,9

Então, Sturtevant mapeou cada um dos 5 genes em uma linha reta que representava o cromossomo X de *Drosophila melanogaster* (**Figura 14.1**), utilizando a porcentagem de recombinação como medida da distância linear entre os genes. Ele estabeleceu que uma unidade de mapa (u.m.) equivaleria a 1% de indivíduos recombinantes. Esta medida de distância foi denominada centiMorgan (cM), em homenagem ao pesquisador chefe da “sala das moscas”.



**Figura 14.1:** Mapa cromossômico desenvolvido por Sturtevant com o posicionamento de 5 genes do cromossomo X de *Drosophila melanogaster*, de acordo com as porcentagens de recombinação entre os genes (em cM).

Este mapa foi construído da mesma maneira como mapeamos as cidades na rodovia BR-040. Mas a diferença é que, após o estabelecimento das posições relativas dos genes, Sturtevant considerou o gene *y* como ponto de partida (0) e os demais genes foram mapeados de acordo com as porcentagens de recombinação entre genes adjacentes. Ele escolheu o gene *y* por estar localizado em uma das extremidades do seu mapa. Pelo mesmo motivo, Sturtevant poderia ter escolhido o gene *r* como ponto de partida. Essa decisão não modificaria nem as posições relativas nem as distâncias entre os genes, apenas os valores de posicionamento de cada gene seriam modificados!

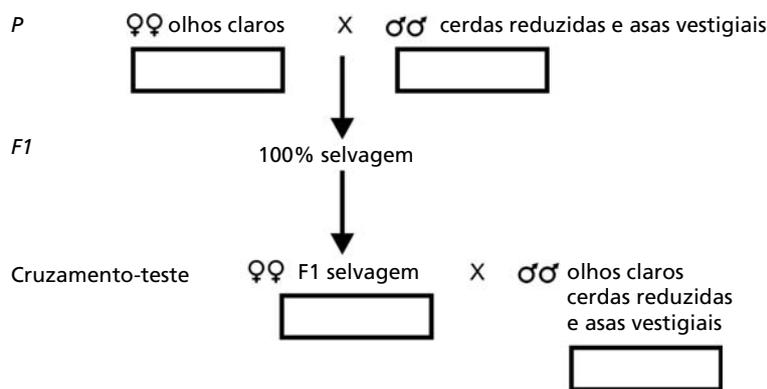
Podemos, então, construir um mapa de ligação utilizando a informação das frequências de recombinação obtidas em diversos cruzamentos-teste diíbridos, ou seja, cruzamentos entre indivíduos duplo-heterozigóticos com indivíduos homozigóticos-recessivos. Contudo, como veremos a seguir, podemos utilizar cruzamentos-teste de indivíduos **triíbridos** para a construção desses mapas, ou seja, cruzamentos-teste com indivíduos triplo-heterozigóticos. Além de ser mais direto, esse tipo de mapeamento inclui uma informação importante que não pode ser observada em cruzamentos diíbridos: a ocorrência de **permutação dupla**.

## O MAPEAMENTO DE TRÊS PONTOS

Inicialmente, quando analisamos diferentes mutações visíveis, não sabemos se os genes que determinam estes fenótipos estão localizados no mesmo cromossomo. Essa informação é indispensável, pois, para a construção de um mapa preciso, devemos estar sempre seguros de que os genes analisados estão ligados.

O tipo de mapeamento mais utilizado é o mapeamento de três pontos, uma vez que permite a identificação da ligação entre 3 genes, do posicionamento relativo desses genes e da distância entre eles. Esse mapeamento não é tão complicado. Precisamos apenas analisar as frequências de recombinação na prole de um cruzamento-teste de indivíduos triplo-heterozigóticos. A partir desse ponto, você já sabe como mapear os genes.

Vamos acompanhar, então, um experimento com moscas da espécie *Drosophila melanogaster* envolvendo mutações em três caracteres diferentes: cerdas reduzidas, asas vestigiais e olhos claros (**Figura 14.2**).



**Figura 14.2:** Experimento com mutantes de *Drosophila melanogaster* para três caracteres diferentes. A mutação *vestigial* causa formação de asas vestigiais; a mutação *reduced bristles* causa redução das cerdas no tórax; e a mutação *light eyes* causa uma alteração na cor dos olhos.

Na geração parental, fêmeas de olhos claros (*light eyes*) foram cruzadas com machos com cerdas reduzidas e asas vestigiais (*reduced bristles-vestigial*). Como apenas moscas selvagens para os três caracteres foram observadas na F1, podemos concluir que todas as três mutações, *vestigial* (*v*), *reduced bristles* (*b*) e *light eyes* (*l*), são recessivas e que as moscas da F1 são triplo-heterozigóticas (*VvBbLl*), enquanto as fêmeas parentais *light eyes* possuem genótipo *VVBbll* e os machos parentais *reduced bristles-vestigial* possuem genótipo *vbbLL*. Para facilitar o entendimento do experimento e do restante da aula, complete as caixas vazias da **Figura 14.2** com o genótipo adequado dos indivíduos.

Sabemos, então, que as moscas da F1 receberam da fêmea parental o gameta com os alelos *VBl* e do macho parental o gameta com os alelos *vbL*. Assim, nesse experimento consideramos como gametas do tipo parental os gametas que apresentarem o arranjo *VBl* ou *vbL*. Todas as outras combinações de alelos serão fruto de recombinações que ocorreram durante a gametogênese das moscas triplo-heterozigóticas da F1. Como vimos na Aula 13, essas recombinações podem ocorrer devido à segregação independente, se os genes em questão estiverem localizados em cromossomos diferentes ou devido à permuta (*crossing-over*) se os genes em questão estiverem localizados no mesmo cromossomo. Assim, temos duas possibilidades:

1ª– se os três genes estiverem em cromossomos diferentes, podemos prever o tipo e frequência dos gametas formados pela fêmea triplo-heterozigótica da F1, utilizando o diagrama de ramos, como você fez em alguns exercícios da Aula 5:



Seriam formados oito tipos de gametas com a frequência de  $1/8$  para cada gameta. Como os machos testadores (*vvblll*) só produzem um tipo de gameta, sendo este triplo-homozigótico recessivo (*vbl*), esperamos encontrar na prole do cruzamento-teste oito tipos de genótipos diferentes, que determinam oito classes fenotípicas diferentes, na proporção de  $1/8 : 1/8 : 1/8 : 1/8 : 1/8 : 1/8 : 1/8 : 1/8$ .



#### Tipos de gametas

Existe uma maneira mais fácil de calcular quantos tipos de gametas são produzidos por um indivíduo heterozigótico para todos os genes em questão: através da fórmula  $2^n$ , sendo  $n$  = número de genes. Por exemplo, para dois genes esperamos encontrar  $4 (= 2^2)$  tipos de gametas, para três genes são esperados  $8 (= 2^3)$  tipos de gametas e, para quatro genes, esperamos  $16 (= 2^4)$  tipos de gametas.

2ª– se os genes em questão estiverem no mesmo cromossomo, observaremos a formação dos oito tipos de gametas apresentados, mas a frequência de cada um deles dependerá da frequência de permutas entre os genes.

O resultado do cruzamento-teste está mostrado no **Quadro 14.4**, onde você pode ver o número de indivíduos obtido para cada uma das classes fenotípicas. A proporção fenotípica observada parece ser bem diferente da esperada pela lei da segregação independente ( $1:1:1:1:1:1:1:1$ ). Se os genes estivessem em cromossomos diferentes, isto é, segregando independentemente, no cruzamento apresentado esperaríamos obter, aproximadamente, 1.523,75 indivíduos em cada uma das classes. Esse valor foi obtido a partir da divisão do total de indivíduos (12.190) pelo número de classes fenotípicas (8).

Nesse ponto, vamos fazer um parêntese para lembrar que devemos utilizar um teste estatístico quando queremos verificar se os desvios entre os valores observados e os esperados são significativos. Você já estudou que os testes estatísticos devem sempre ser utilizados para testar hipóteses a partir da análise de amostras. No caso de cruzamentos genéticos em que desejamos testar se as proporções fenotípicas observadas estão de acordo com as proporções fenotípicas esperadas, um procedimento muito comum é utilizar a distribuição do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ). Você já conhece os conceitos sobre a distribuição do Qui-quadrado das aulas de Estatística. Você também pode voltar à Aula 5 para rever como esse teste pode ser aplicado em problemas genéticos. Esperamos que isso facilite seu entendimento.

Voltando ao **Quadro 14.4**, ao aplicarmos o teste do  $\chi^2$  obteremos uma probabilidade menor do que 5% dos desvios entre os valores observados e esperados estarem ocorrendo ao acaso (valor de  $\chi^2_{\text{obtido}} = 23.799,06$ ; graus de liberdade = 7; nível de significância = 0,05). Em outras palavras, a probabilidade de estes desvios estarem sendo causados apenas pelo problema do tamanho amostral é menor do que 5%. Conclusão: devemos considerar que os valores observados são muito diferentes dos valores esperados pela hipótese de que os três genes estejam em cromossomos diferentes. Logo, esses três genes, ou pelo menos dois deles, devem estar localizados no mesmo cromossomo. Acompanhe a aplicação do teste do  $\chi^2$  nesse cruzamento-teste triíbrido no Apêndice desta aula.

Próximo passo: vamos completar o **Quadro 14.4** colocando o genótipo correspondente para cada uma das classes fenotípicas. Podemos identificar facilmente as **classes fenotípicas parentais**. Essas classes são aquelas que receberam do indivíduo heterozigótico da F1 os gametas com os arranjos parentais ( $VBl$  ou  $vbL$ ) e, via de regra, **apresentam o maior número de indivíduos na prole**, pois não dependem dos eventos de permutação. Desse modo, podemos identificar quais são as classes parentais mesmo quando não temos as informações do cruzamento inicial. Lembre-se de que todos os indivíduos da F2 receberam do indivíduo homozigótico recessivo o gameta  $vbl$ .

No **Quadro 14.4**, podemos determinar, portanto, que a classe fenotípica olhos claros (com 5.076 indivíduos na prole) e a classe asas vestigiais e cerdas reduzidas (com 5.308 indivíduos na prole) são as classes parentais desse experimento (veja a **Figura 14.2**).

**Quadro 14.4:** Análise da prole do cruzamento-teste triíbrido entre fêmeas da F1 triplo-heterozigóticas e machos testadores triplo-homozigóticos recessivos; experimento apresentado na Figura 14.2.

Fenótipos da prole do cruzamento-teste	Nº observado de indivíduos na prole por fenótipo	Genótipos dos indivíduos da prole	Tipo de gameta formado pelas fêmeas da F1 triplo-heterozigóticas
Asas vestigiais	316	vBL/vbl	vBL – tipo recombinante
Cerdas reduzidas	597		
Olhos claros	5076	VBl/vbl	VBl – tipo parental
Asas vestigiais e cerdas reduzidas	5308	vbL/vbl	vbL – tipo parental
Asas vestigiais e olhos claros	602		
Cerdas reduzidas e olhos claros	281		
Asas vestigiais, cerdas reduzidas e olhos claros	8		
Selvagem (normal)	2		
Total	12190	–	–

E quanto às classes recombinantes? Vamos começar considerando os genes *vestigial* e *reduced bristles*. Sabemos que os indivíduos das classes parentais possuem as combinações alélicas *VB* ou *vb* para estes dois genes. Desse modo, indivíduos recombinantes devem possuir as combinações *Vb* ou *vB*, fruto de um evento de permuta entre estes genes. Como os indivíduos testadores contribuem somente com os alelos *vb*, os indivíduos recombinantes devem ser: *Vb/vb*, apresentando o fenótipo mutante *reduced bristles*; ou *vB/vb*, apresentando o fenótipo mutante *vestigial*. Existem, portanto, 4 classes fenotípicas recombinantes entre os genes *vestigial* e *reduced bristles*: asas vestigiais (*vBL/vbl*), cerdas reduzidas (*VbL/vbl*), asas vestigiais e olhos claros (*vBl/vbl*) e cerdas reduzidas e olhos claros (*Vbl/vbl*). As demais classes fenotípicas possuem as combinações alélicas parentais para estes genes.



#### Entendendo o mapeamento

Para facilitar o cálculo da frequência de recombinantes no mapeamento de três pontos, devemos considerar dois genes de cada vez.

Lembre-se de que as classes fenotípicas parentais são as duas classes que apresentam os maiores números de indivíduos na prole do cruzamento-teste e que o arranjo dos alelos parentais pode estar em configuração *cis* ou *trans*.

Quanto aos genes *vestigial* e *light eyes*, sabemos que os indivíduos das classes parentais possuem as combinações alélicas *Vl* ou *vL* e que, portanto, os indivíduos recombinantes devem possuir as combinações *VL* ou *vl*. Logo, os indivíduos recombinantes para os genes *v* e *l* apresentam o genótipo *VL/vl*, sendo selvagens para os dois genes, ou o genótipo *vl/vl*, sendo mutantes para estes genes. Desse modo, existem 4 classes fenotípicas recombinantes entre os genes *vestigial* e *light eyes*: cerdas reduzidas (*VbL/vbl*), asas vestigiais e olhos claros (*vBl/vbl*), asas vestigiais, cerdas reduzidas e olhos claros (*vbl/vbl*) e selvagem (*VBL/vbl*); as demais classes possuem combinações alélicas parentais considerando estes dois genes.

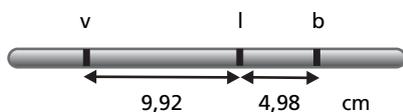
Por fim, quando analisamos os genes *reduced bristles* e *light eyes*, podemos concluir que os indivíduos recombinantes possuem as combinações alélicas *BL* ou *bl*, já que os indivíduos das classes parentais apresentam as combinações *Bl* ou *bL*. Assim, os indivíduos recombinantes para estes genes devem ser *BL/bl*, com fenótipo selvagem para os dois genes, ou *bl/bl*, com fenótipo mutante para ambos os genes. Podemos identificar, então, 4 classes fenotípicas recombinantes entre os genes *reduced bristles* e *light eyes*: asas vestigiais (*vBL/vbl*), cerdas reduzidas e olhos claros (*Vbl/vbl*), asas vestigiais, cerdas reduzidas e olhos claros (*vbl/vbl*) e selvagem (*VBL/vbl*). As demais classes possuem as combinações alélicas parentais, considerando-se os genes *reduced bristles* e *light eyes*.

Agora que completamos o **Quadro 14.4**, e já sabemos quais são as classes recombinantes, fica fácil estimar as frequências de recombinações entre os pares de genes. Basta que calculemos as porcentagens de indivíduos recombinantes para cada caso, em relação ao total de indivíduos observados. Logo, devemos somar o número de indivíduos observados nas 4 classes recombinantes encontradas para cada caso, e dividir essa soma pelo número total de indivíduos. Observe:

1. Recombinantes entre *v* e *b*:  $FR = (316+597+602+281) / 12190 = 0,1473$  ou 14,73%
2. Recombinantes entre *v* e *l*:  $FR = (597+602+8+2) / 12190 = 0,0992$  ou 9,92%
3. Recombinantes entre *b* e *l*:  $FR = (316+281+8+2) / 12190 = 0,0498$  ou 4,98%

Através destas estimativas, o que podemos dizer sobre a localização destes genes? Como já esperávamos, as freqüências de recombinação entre todos os pares de genes são consideravelmente menores do que 50%, pois os três genes analisados estão localizados em um mesmo cromossomo.

Agora que confirmamos que estes genes estão ligados e estimamos as freqüências de recombinantes para cada par de genes, podemos mapear estes genes em uma ordem linear. Como os genes *vestigial* e *reduced bristles* possuem a maior FR (14,73%), estes genes são, certamente, os mais distantes. Portanto, o gene *light eyes* está localizado entre eles, e as distâncias *v-l* e *l-b* são 9,92cM e 4,98cM, respectivamente:

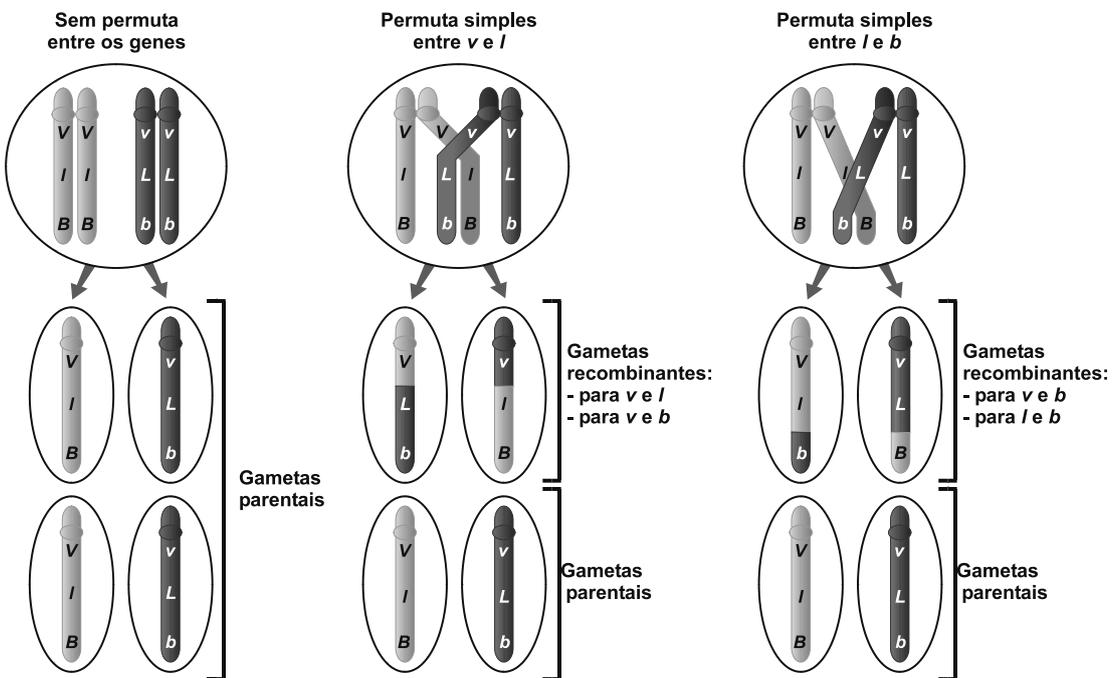


Existem algumas observações importantes a serem feitas:

- I. Este mapa pode ser invertido e permanecer correto, como você viu durante o mapeamento das distâncias lineares entre cidades;
- II. A ordem real dos genes é diferente da ordem que usamos quando iniciamos o experimento. Como não tínhamos esta informação, uma ordem arbitrária foi determinada inicialmente;
- III. Apenas com os dados deste cruzamento, não podemos estabelecer em que ponto de um dos cromossomos de *Drosophila melanogaster* se encontram estes genes;
- IV. A soma das duas distâncias menores ( $9,92 + 4,98 = 14,90\text{cM}$ ) é maior do que a distância calculada para os genes *v* e *b* ( $14,73\text{cM}$ ). Por que isto acontece? Você verá a seguir.

### PERMUTAÇÃO DUPLA

No experimento anterior, você parou para pensar como as classes fenotípicas recombinantes foram formadas? Sabemos que os três genes analisados estão localizados no mesmo cromossomo e que, portanto, as classes fenotípicas recombinantes são produtos das permutações entre os genes, e não da segregação independente entre eles. Sabemos, também, que o gene *light eyes* está localizado entre os genes *vestigial* e *reduced bristles*. Podemos imaginar, então, dois tipos de permuta entre esses genes na meiose das fêmeas triplo-heterozigóticas da F1. Analise a Figura 14.3.



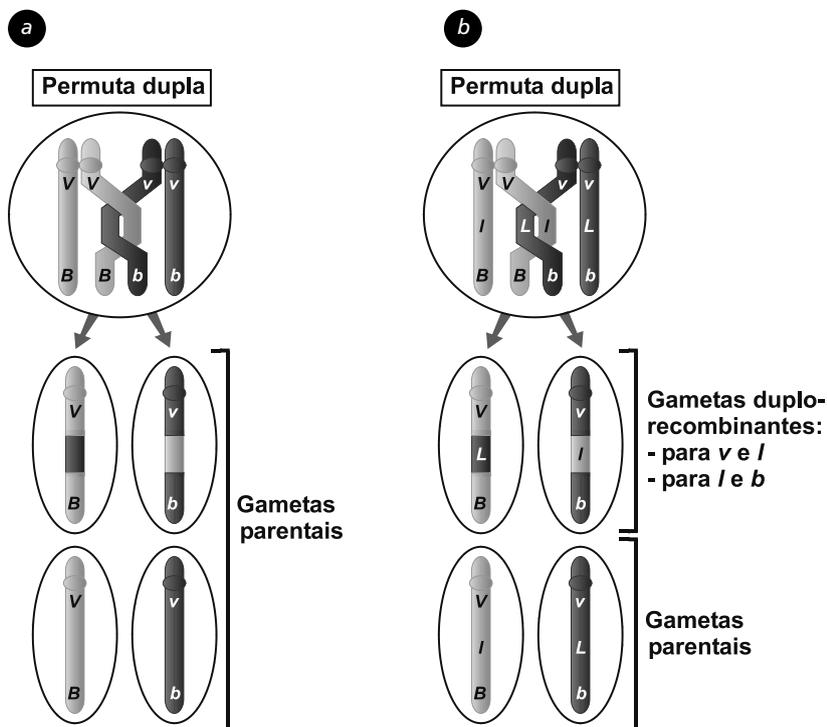
**Figura 14.3:** Células meióticas das fêmeas triplo-heterozigóticas da F1 e os gametas formados quando não ocorrem eventos de permutação (à esquerda) e quando ocorrem permutas entre os genes *vestigial* (*v*) e *light eyes* (*l*) (no centro) ou entre os genes *light eyes* (*l*) e *reduced bristles* (*b*) (à direita). Note que os genes estão ordenados conforme foram mapeados.

No entanto, na prole do cruzamento-teste foram encontradas duas classes fenotípicas recombinantes raras, asas vestigiais, cerdas reduzidas e olhos claros (*vbl/vbl*) e selvagem (*VBL/vbl*), que não podem ter sido produzidas por apenas um evento de permutação entre os genes (como vimos na Figura 14.3). Como a combinação de alelos que determina estas classes (*vbl* ou *VBL*) pode ter sido produzida na meiose das fêmeas triíbridas da F1?

Pouco depois de ter construído o primeiro mapa cromossômico, Sturtevant levantou a hipótese de que, entre dois genes, poderiam ocorrer dois eventos de permutação. Quando isto acontecesse, a recombinação dos alelos causada por uma das permutas seria anulada por uma segunda recombinação desses alelos devido ao outro evento de permutação. O resultado dessa **permutação dupla** seria, portanto, a ausência de recombinação entre os dois genes e, ao considerar-se só esses genes, apenas gametas do tipo parental seriam formados (**Figura 14.4a**).

Ao incluímos na análise um terceiro gene intermediário (mapeamento de três pontos), obtemos uma vantagem importante em relação à análise de ligação utilizando apenas dois genes: somos capazes de detectar a ocorrência de permutação dupla entre os dois genes extremos, o que leva a uma estimativa mais precisa da frequência de permutas e, conseqüentemente, da estimativa da distância entre os genes.

Os eventos de permutação dupla ocorrem com uma frequência muito menor do que um evento de permutação simples, principalmente se os genes estiverem muito próximos. Por esse motivo, as **classes duplo-recombinantes** (**Figura 14.4b**) são sempre as classes fenotípicas mais raras. Logo, este fenômeno explica como foram formados os gametas que deram origem às duas classes fenotípicas recombinantes raras na prole do cruzamento-teste das fêmeas triplo-heterozigóticas.



**Figura 14.4:** Células meióticas das fêmeas triplo-heterozigóticas da F1 e os gametas formados quando ocorrem eventos de permutação dupla: a) quando apenas dois genes são considerados pode-se obter gametas do tipo parental para estes dois genes, mesmo após a ocorrência de permuta dupla; b) quando um gene intermediário é considerado, os gametas do tipo duplo-recombinantes comprovam a ocorrência de permutação dupla entre os dois genes mais extremos.

Adicionalmente, a ocorrência de permutação dupla explica por que as frequências de recombinação para genes mais distantes acabam sendo subestimadas. A ocorrência de dupla-permuta entre dois genes pode levar à formação de gametas do tipo parental. Nesses casos, embora os genes estejam distantes o bastante para que dois eventos de permuta ocorram entre eles, não somos capazes de detectar gametas recombinantes e os indivíduos formados por esses gametas não são incluídos no cálculo da FR, fazendo com que esse valor se torne menor.

Por esse motivo, devemos considerar como melhor estimativa para a distância entre dois genes a soma das distâncias entre os genes que estão entre eles. No nosso exemplo, a melhor estimativa para a distância entre os genes *vestigial* e *reduced bristles* será a soma das distâncias entre os genes *vestigial* e *light eyes* e entre os genes *light eyes* e *reduced bristles*, ou seja, 14,9 u.m. A estimativa obtida diretamente pela frequência de recombinantes entre *vestigial* e *reduced bristles* será uma subestimativa, pois não considera os indivíduos duplo-recombinantes.

Você também pode corrigir a FR entre os genes mais distantes em um mapa de três pontos, incluindo no cálculo desse valor o número de indivíduos observados nas duas classes mais raras, contados duas vezes para cada classe! Por exemplo, para corrigir a FR entre *vestigial* e *reduced bristles* devemos somar, duas vezes, o número de indivíduos observados nas classes raras: selvagem e asas vestigiais, cerdas reduzidas, olhos claros. Dessa maneira, a FR entre *v* e *b* corrigida será igual à soma das FR entre *v* e *l* e entre *l* e *v* ( $0,0992 + 0,0498 = 14,9\%$ ). Acompanhe:

- FR entre *s* e *c* corrigida =  $(316+597+602+281+8+8+2+2)/12190 = 0,149$  ou 14,9%. Note que esse valor é igual ao obtido pela soma das duas distâncias menores.

Uma dica! Podemos determinar, de forma mais direta, a ordem dos genes em cruzamentos-teste triíbridos quando comparamos os genótipos das classes fenotípicas parentais com os genótipos das classes fenotípicas duplo-recombinantes. Como uma permutação dupla entre três genes ligados troca os alelos do gene posicionado no centro do mapa de três pontos, entre duas cromátides não-irmãs quaisquer, podemos utilizar as classes duplo-recombinantes para determinar a ordem correta dos genes. Por exemplo, no cruzamento-teste das drosófilas, enquanto as classes fenotípicas parentais possuíam os genótipos *VBllvbl* e *vbL/vbl*, as classes duplo-recombinantes possuíam os genótipos *VBL/vbl* e *vbl/vbl*. Como apenas um alelo foi trocado entre os cromossomos homólogos, o alelo do gene que condiciona a mutação olhos *light eyes*, devemos concluir que este gene está posicionado entre os outros dois genes.



#### Interferência

Até agora, assumimos que os eventos de permutação são eventos independentes. Mas, na verdade, pode haver uma maior ou menor interferência (*I*) quando a ocorrência de uma permutação em uma região reduz a probabilidade de permutação em uma região adjacente, ou seja, reduz a probabilidade de acontecer uma permutação dupla. A interferência está relacionada, em grande parte, à distância entre as regiões envolvidas, pois o valor de *I* é maior em regiões menores. Contudo, ainda não sabemos exatamente qual é o mecanismo molecular responsável por esse fenômeno.

## CONSTRUINDO MAPAS CROMOSSÔMICOS

O desenvolvimento de um mapa cromossômico abrangente depende da análise do maior número possível de marcadores (mutações visíveis ou, veja a seguir, marcadores moleculares neutros). Em geral, o mapa de ligação de um organismo é resultado da colaboração entre diferentes grupos de pesquisa.

Nos mapas cromossômicos construídos através da análise de FR, os pesquisadores somam os dados de cruzamentos que envolvem genes próximos formando os grupos de ligação. Por exemplo, sabendo que os genes que determinam as mutações *crossveinless*, *echinus* e *scute* estão localizados no cromossomo X de *Drosophila melanogaster*, podemos planejar um experimento para incluir estes genes no mapa cromossômico desenvolvido por Sturtevant, que também analisou genes nesse cromossomo.

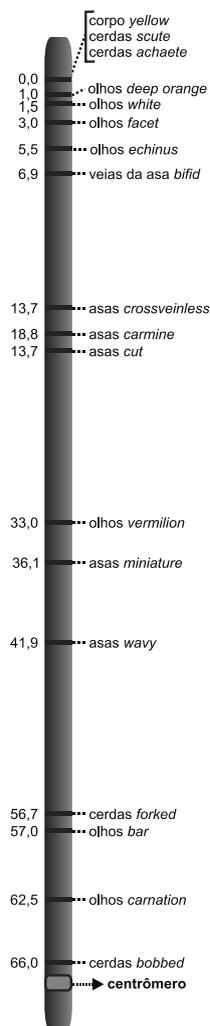
Você poderia imaginar um experimento onde pudéssemos estimar a distância entre estes genes e alguns dos genes já mapeados por Sturtevant? Lembre-se de que não precisamos, e, em geral, nem podemos, analisar todos os genes de uma vez, pois quanto maior o número de mutações em um mesmo indivíduo menor é a sua viabilidade. Assim, poderíamos, por exemplo, realizar cruzamentos-teste que incluíssem as mutações em questão duas a duas, ou três a três, e estimar as FR. Depois, como no exemplo das distâncias lineares entre as cidades, construiríamos o mapa do cromossomo X, incluindo todas as mutações analisadas. O mesmo poderia ser feito para qualquer outra mutação nova não mapeada, estivesse ela no cromossomo X ou em qualquer autossomo, pois a identificação de freqüências de recombinantes menores do que 50% nos cruzamentos-teste, indicaria a que grupo de ligação o novo gene a ser mapeado pertence. Procure discutir essas idéias com seus colegas e tutores.

O mapeamento cromossômico produz grupos de ligação que correspondem a conjuntos de genes presentes em cada par de cromossomos homólogos. No entanto, apenas a informação do mapa de recombinação não nos diz a qual par cromossômico do organismo um determinado grupo de ligação pertence. Com exceção dos cromossomos sexuais, que apresentam padrões de herança identificáveis, necessitamos de análises citogenéticas para que cada grupo de ligação seja localizado em um par de cromossomos específico.

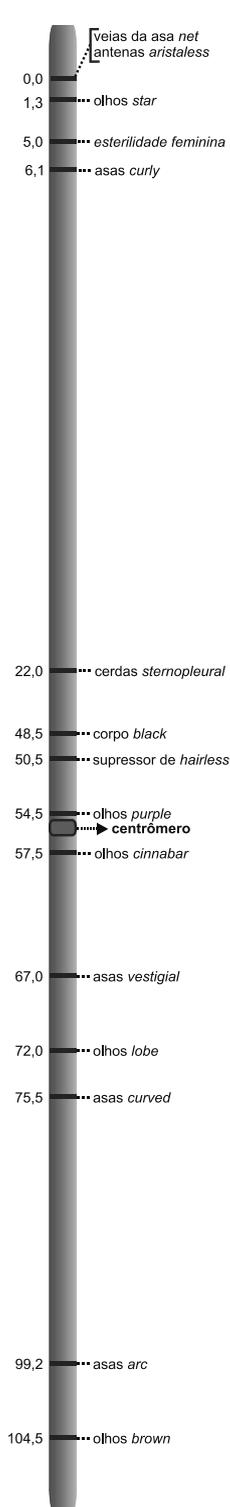
Como você já sabe, um dos organismos-modelo mais intensamente estudados é a *Drosophila*, em especial a espécie *Drosophila melanogaster*. A **Figura 14.5** apresenta um mapa cromossômico dessa espécie, com o posicionamento de uma parte de todos os genes conhecidos em cada par de cromossomos homólogos.

As distâncias entre os genes nos mapas de ligação (distâncias genéticas) correspondem a medidas de comprimento das distâncias físicas dos genes nos cromossomos? O cálculo das distâncias genéticas tem por base a ocorrência de eventos de permutação e não a distância real entre os genes. Dessa maneira, embora o mapeamento cromossômico revele a ordem e as distâncias relativas dos genes nos cromossomos, as distâncias calculadas dessa forma não podem ser utilizadas como medidas de distâncias físicas reais entre os genes.

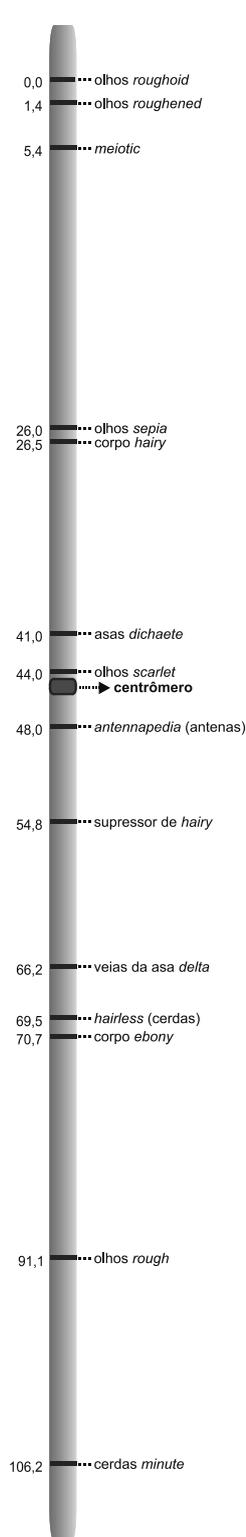
**Cromossomo X**



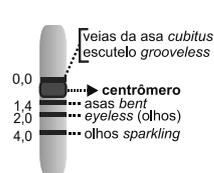
**Cromossomo 2**



**Cromossomo 3**



**Cromossomo 4**



**Figura 14.5:** Mapa de ligação de *Drosophila melanogaster* que mostra como cada grupo de ligação corresponde a um par de cromossomos homólogos. As distâncias estão em unidades de mapa, calculadas a partir do gene mapeado no extremo de uma das pontas do cromossomo. Como a frequência de recombinação para genes muito distantes não excede 50%, e para evitar erros devido à ocorrência de permutação dupla, as maiores distâncias foram determinadas através da soma de distâncias menores. Os nomes das mutações que permitiram à identificação dos genes são mantidos em inglês por convenção.

O mapeamento de genes nos cromossomos dos organismos eucarióticos revolucionou o pensamento da comunidade científica. Os genes deixaram de ser vistos como entidades abstratas invisíveis, associados de maneira misteriosa aos cromossomos, e passaram a ser vistos como estruturas físicas que fazem parte dos cromossomos e que possuem uma localização exata. O reconhecimento da veracidade da teoria cromossômica da herança gerou um grande interesse científico no sentido de determinar a estrutura física e o funcionamento dos genes, interesse que existe ainda hoje.

Para nós, é muito fácil pensar nos genes como parte integrante dos cromossomos. Aliás, seria até difícil imaginá-los como entidades abstratas. Mas, devemos nos lembrar de que na época em que o conhecimento sobre as bases da hereditariedade estava sendo desenvolvido, ainda não existiam evidências sobre a natureza física dos fatores hereditários.

Hoje existem mapas que mostram a localização e a função dos genes conhecidos para muitos organismos. Esses mapas genéticos permitem que os geneticistas localizem genes em experimentos futuros, através da análise de mutantes novos, e que planejem as mais diversas análises genéticas.



### Mapas cromossômicos moleculares

Recentemente, o desenvolvimento de técnicas moleculares permitiu a construção de mapas cromossômicos moleculares com alta precisão. Variações de nucleotídeos nas moléculas de DNA que não causam variações fenotípicas observáveis nos indivíduos são utilizadas como marcadores moleculares, denominados marcadores neutros. Por exemplo, quando no locus  $a$  de um cromossomo encontramos uma combinação  $a^1$  de nucleotídeos, e no mesmo locus no cromossomo homólogo observamos uma combinação  $a^2$ , consideramos que o indivíduo é heterozigótico nesse locus e que essa variação pode ser utilizada como um marcador neutro. O que permite o mapeamento desses marcadores é o fato de que fazem parte dos cromossomos e que, portanto, segregam-se e recombinam-se como fazem os genes. Estes mapas possuem ampla aplicação, como, por exemplo, para a descoberta de genes que controlam caracteres quantitativos, como você verá na Aula 17.

Até aqui analisamos características que apresentam variações fenotípicas condicionadas por variações genéticas em um único gene. Vimos também que os padrões de transmissão de duas ou mais características dependem da posição dos genes correspondentes nos diferentes cromossomos do organismo. Ou seja, os padrões de transmissão dependem se os genes estão em cromossomos diferentes ou mais ou menos próximos, no mesmo cromossomo. Na próxima aula, veremos que muitas características nas espécies não são monogênicas, tendo seu fenótipo determinado pela interação entre alelos de dois ou mais genes.

No começo do século XX, ainda não havia meios para determinar a localização de genes nos cromossomos. No entanto, já existia uma hipótese que levou ao desenvolvimento de um método de mapeamento utilizado ainda hoje.

Thomas Morgan imaginou que os genes possuíam locais definidos nos cromossomos e que a frequência de recombinação entre dois genes dependeria da distância linear entre eles. Motivado pelas idéias de seu professor, Alfred Sturtevant reconheceu que poderia utilizar a frequência de recombinação como uma medida da distância entre dois genes. Deste modo, Sturtevant construiu o primeiro mapa cromossômico, com os dados de cruzamentos diíbridos realizados pela equipe de Morgan.

Um método útil para a construção de mapas cromossômicos é o mapeamento de três pontos. Esse método permite a identificação não só da ligação entre 3 genes, mas também do posicionamento relativo desses genes e da distância entre eles. Analisando a prole de cruzamentos-teste triíbridos, podemos identificar quais são as classes fenotípicas recombinantes entre cada par de genes analisados e calcular as frequências de recombinação, que serão utilizadas como medida de distância genética. Uma outra vantagem do mapeamento de três pontos é a identificação da ocorrência de permutação dupla, o que permite uma estimativa mais precisa das distâncias gênicas.

Ficou estabelecido que 1% de recombinantes corresponde a uma unidade de distância entre os genes, chamada de unidade de mapa (u.m.) ou centiMorgan (cM). Desse modo, quanto mais distantes estiverem dois genes, maior será a frequência de permuta entre eles e, conseqüentemente, maior a frequência de indivíduos recombinantes na prole de cruzamentos-teste. Mas devemos sempre lembrar de que as distâncias nos mapas de ligação não correspondem a medidas de comprimento da distância física entre os genes, pois o cálculo das distâncias genéticas está embasado na ocorrência de eventos de permutação entre os genes, e não na distância real.

O desenvolvimento de um mapa cromossômico abrangente para um determinado organismo depende da análise do maior número possível de mutações visíveis; um esforço geralmente dividido entre diferentes grupos de pesquisa. Além disso, análises citogenéticas posteriores são necessárias para revelar em que par de cromossomos homólogos do organismo um grupo de ligação específico está localizado.

## EXERCÍCIOS

1. Complete as frases com as alternativas abaixo:

( a ) interferência

( b ) loco gênico

( c ) mapa cromossômico ou mapa de ligação

( d ) unidade de mapa (u.m.)

• A taxa de recombinação entre genes pertencentes a um mesmo grupo de ligação é usada para se determinar o posicionamento relativo e linear desses genes no ( ).

• A posição que um gene ocupa em um cromossomo ou em um segmento de DNA é chamada ( ).

• O fenômeno da ocorrência de uma permuta diminuir ou aumentar a probabilidade da ocorrência de outra permuta em uma região adjacente do cromossomo é denominado ( ).

• Uma ( ) é a distância entre dois genes que apresentam 1% de recombinantes.

Utilize as alternativas abaixo para responder às questões de 2 a 4:

( a ) ocorrência de permutação dupla

( b ) localização linear e em posições definidas dos genes nos cromossomos

( c ) ocorrência de permutação simples

2. O fato de a porcentagem de recombinação entre dois genes quaisquer de um mesmo cromossomo ser constante é explicado pela ( ).

3. Em um de seus experimentos, Bateson e colaboradores cruzaram linhagens de ervilha-de-cheiro duplo-homozigóticas dominantes quanto à cor da flor e forma do grão de pólen (flor púrpura e grão de pólen longo) com linhagens duplo-homozigóticas recessivas (flor vermelha e grão de pólen redondo). Os indivíduos da geração F1 foram submetidos a um cruzamento-teste que resultou em 12,6% de descendentes recombinantes, isto é, apresentando flor púrpura e pólen redondo ou flor vermelha e pólen longo. Estes resultados podem ser explicados pela ( ).

4. O fato de a distância entre dois genes, calculada diretamente, ser menor do que a distância obtida pela soma de suas distâncias em relação a um terceiro gene localizado entre eles é explicado pela ( ).

5. Drosófilas fêmeas de uma linhagem heterozigótica para três genes ligados foram submetidas a cruzamentos-teste e concluiu-se, pelos resultados, que produziram os seguintes gametas:

AbC – 410                      Abc – 20

aBc – 420                      aBC – 19

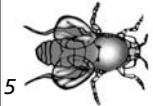
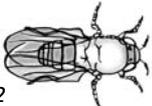
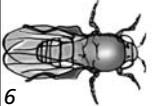
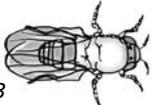
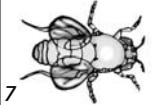
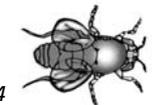
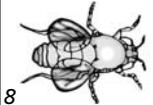
ABc – 12                      ABC – 0

abC – 12                      abc – 1

a) calcule a distância entre os genes;

b) determine como os genes estão ordenados através de um mapa de ligação e, se necessário, corrija a distância calculada para os genes mais afastados.

6. Resultado de um cruzamento-teste envolvendo três características diferentes que apresentam mutações recessivas, em indivíduos da espécie *Drosophila melanogaster*. Analise os fenótipos atribuindo um nome a cada uma das 3 mutações diferentes, e aos genes que as condicionam (pode ser qualquer nome! Isto não altera o resultado).

Classes fenotípicas	(O)	(E)	Genótipos	Classes fenotípicas	(O)	(E)	Genótipos
1 	174			5 	728		
2 	11			6 	71		
3 	742			7 	89		
4 	19			8 	166		

Considere como características dominantes a cor do corpo clara, os olhos escuros e asas longas.

Complete o quadro e determine:

- a) Quais são as classes fenotípicas parentais, recombinantes e duplo-recombinantes;
- b) As proporções observadas estão de acordo com o esperado (utilize o teste do qui-quadrado)? O que isso significa?
- c) Havendo ligação, qual a distância entre os genes envolvidos e como eles estão ordenados no mapa de ligação? Utilize a distância corrigida para os genes mais afastados.

7. Na tabela a seguir estão listadas as frequências de recombinação estimadas em diversos cruzamentos-teste diíbridos entre variedades de margaridas. Analisando os dados:

- a) determine se existe um ou mais grupos de ligação, ou seja, grupos de genes localizados em um mesmo cromossomo;
- b) construa um mapa de ligação, ou mais de um se necessário, mostrando a ordem dos genes e a distância entre os loci, em unidades de mapa.

*Lembre-se de que  $FR \approx 50\%$  pode significar que os genes estão localizados em cromossomos diferentes ou que estão localizados no mesmo cromossomo, porém muito distantes entre si! Leve todas as possibilidades em consideração.*

Genes	FR	Genes	FR	Genes	FR
a-b	50%	b-d	50%	c-g	50%
a-c	40%	b-e	50%	d-e	38%
a-d	8%	b-f	10%	d-f	50%
a-e	30%	b-g	25%	d-g	50%
a-f	50%	c-d	48%	e-f	50%
a-g	50%	c-e	10%	e-g	50%
b-c	50%	c-f	50%	f-g	15%

## APÊNDICE

### Aplicação da distribuição do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) em mapeamentos de três-pontos

Em cruzamentos-teste triíbridos, freqüentemente observamos proporções fenotípicas que apresentam desvios em relação aos valores esperados pela hipótese nula ( $H_0$ ) de segregação independente entre todos os genes envolvidos. Para testar se estes desvios são, ou não, significativos, devemos comparar as freqüências observadas com uma distribuição de freqüências teóricas através do teste do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ). Acompanhe o **Quadro 14.5**.

**Quadro 14.5:** Valor do qui-quadrado ( $\chi^2$ ) calculado para o resultado do cruzamento-teste triíbrido apresentado no **Quadro 14.4**. **Observado (O)** é o número de indivíduos observados para cada classe fenotípica, a **proporção esperada** é calculada pela hipótese nula a ser testada (lei da segregação independente), **Esperado (E)** é o número de indivíduos esperado pela hipótese nula (no mesmo total do número de indivíduos observados).

Classes fenotípicas	Observado (O)	Proporção esperada	Esperado (E)	(O - E) <sup>2</sup>	(O - E) <sup>2</sup> / E
Asas vestigiais	316	1/8	1523,75	(316-1523,75) <sup>2</sup>	957,28
Cerdas reduzidas	597	1/8	1523,75	(597-1523,75) <sup>2</sup>	563,65
Olhos claros	5076	1/8	1523,75	(5076-1523,75) <sup>2</sup>	8281,20
Asas vestigiais e cerdas reduzidas	5308	1/8	1523,75	(5308-1523,75) <sup>2</sup>	9398,23
Asas vestigiais e olhos claros	602	1/8	1523,75	(602-1523,75) <sup>2</sup>	557,59
Cerdas reduzidas e olhos claros	281	1/8	1523,75	(281-1523,75) <sup>2</sup>	1013,57
Asas vestigiais, cerdas reduzidas e olhos claros	8	1/8	1523,75	(8-1523,75) <sup>2</sup>	1507,79
Selvagem (normal)	2	1/8	1523,75	(2-1523,75) <sup>2</sup>	1519,75
<b>TOTAL (<math>\Sigma</math>)</b>	<b>12190</b>	<b>1</b>	<b>12190</b>	<b>-</b>	<b><math>\chi^2 = 23799,06</math></b>

Podemos testar se o resultado desse cruzamento-teste triíbrido está de acordo com a lei da segregação independente ( $H_0$ ) através da comparação do valor do  $\chi^2_{\text{calculado}}$  com o valor crítico de  $\chi^2$  (consulte a tabela de distribuição dos valores críticos de  $\chi^2$  apresentada na Aula 5). Para o nível de significância de 5% ( $\alpha = 0,05$ ) e sendo os graus de liberdade (gl) desse experimento igual a 7 (gl = número de classes - 1 = 8 - 1), o valor do  $\chi^2_{\text{crítico}}$  é 14,07. Portanto, o  $\chi^2_{\text{calculado}}$  (23799,06) nesse experimento é maior do que o  $\chi^2_{\text{crítico}}$  (14,07), sendo a probabilidade de que os desvios em relação ao esperado pela  $H_0$  estejam ocorrendo ao acaso menor do que 5%. Assim, devemos rejeitar a  $H_0$ , considerando que o resultado observado neste cruzamento não está de acordo com o esperado pela 2ª lei de Mendel. Uma hipótese alternativa ( $H_A$ ) deve, então, ser proposta: pelo menos dois genes envolvidos neste cruzamento-teste triíbrido estão ligados, ou seja, localizados no mesmo cromossomo. Para determinar se todos os três genes envolvidos estão ligados, precisamos concluir o mapeamento de três pontos, estimando as freqüências de recombinação entre cada par de genes envolvidos.



# As interações entre genes na determinação de uma característica

# AULA 15

## objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Reconhecer que vários genes podem afetar um caráter.
- Identificar que as modificações nas proporções fenotípicas podem ser causadas por interações gênicas.
- Reconhecer as bases moleculares das interações gênicas.
- Aplicar teste de alelismo.

## INTRODUÇÃO



**WILLIAM  
BATESON  
(1861-1926)**

Biólogo inglês.

Até aqui, durante as nossas aulas consideramos a análise de características condicionadas por apenas um gene. Vimos também que a determinação do fenótipo nessas características depende das relações de dominância entre os alelos do gene. Contudo, para várias características, os alelos de mais de um gene podem interagir na determinação do fenótipo.

## AS INTERAÇÕES ENTRE GENES E AS PROPORÇÕES ESPERADAS NOS CRUZAMENTOS ENTRE LINHAGENS PURAS

Algumas das primeiras evidências de que uma característica pode ser influenciada por mais de um gene foram obtidas por **BATESON** e colaboradores em 1905, a partir de experimentos com galinhas (*Gallus gallus*), logo após o redescobrimto dos trabalhos de Mendel. Eles estudaram várias características, inclusive a crista desses galináceos (**Figura 15.1**). Esse exemplo é muito conhecido e apresentado na maioria dos livros didáticos. Procure revê-lo nos livros do Ensino Médio, pois, nesta aula, vamos começar a analisar essa questão a partir de outro exemplo.

Os periquitos australianos possuem grande diversidade de cores, mas há quatro cores básicas em sua plumagem: verde, azul, amarela e branca, nas quais nos deteremos (**Figura 15.2**). Hoje, já conhecemos o padrão de determinação genética dessa variação. Mas imagine se nós, como geneticistas, tivéssemos que propor uma hipótese para explicá-la. Como poderíamos começar nossa análise?

Uma das mais fundamentais estratégias para resolver um problema em Genética é a realização de cruzamentos. Então, deveríamos cruzar os periquitos e ver os resultados. Cruzando duas linhagens puras, uma com penas verdes e outra com penas brancas, obteríamos uma  $F_1$  de periquitos todos com penas verdes. É claro que a partir de um único casal não teríamos muitas informações, pois cada casal de periquitos tem um número bem reduzido de filhotes. Vamos então imaginar que poderíamos analisar o resultado obtido a partir do cruzamento de vários casais e somar os dados para obtermos as proporções da  $F_2$ .

Antes que eu conte para você o resultado, responda: que proporções você esperaria obter na  $F_2$  desse cruzamento se apenas um gene estivesse envolvido na determinação da característica cor da pena?

Você deve ter respondido: 3 verdes para 1 branco, considerando, pelo resultado da  $F_1$ , que o alelo para a cor verde seria dominante sobre o alelo para a cor branca.



**Figura 15.1:** A variação no padrão da crista de galinhas foi um dos primeiros exemplos de interação gênica descritos.

Mas não é este o resultado que obteríamos, e sim, observaríamos o aparecimento de periquitos com os quatro fenótipos possíveis nas proporções de 9 verdes : 3 amarelos : 3 azuis : 1 branco. Essas proporções são semelhantes às obtidas nos cruzamentos diíbridos realizados por Mendel, a diferença é que, nos exemplos com as ervilhas, duas características eram consideradas simultaneamente. Por exemplo, cor e forma da semente. Já no caso dos periquitos, estamos considerando apenas uma característica, cor da pena. De qualquer forma, a proporção 9 : 3 : 3 : 1 na F<sub>2</sub> de um cruzamento entre duas linhagens puras indica que dois genes que segregam independentemente estejam envolvidos na determinação dessa característica e que há dominância completa entre os alelos de cada um dos genes (Quadro 15.1).

**Quadro 15.1:** Proporções genotípica e fenotípica esperadas em cruzamentos diíbridos onde há segregação independente e dominância completa entre os alelos dos genes em questão.

	¼ AB	¼ Ab	¼ aB	¼ ab
¼ AB	1/16 AABB	1/16 AABb	1/16 AaBB	1/16 AaBb
¼ Ab	1/16 AABb	1/16 AAbb	1/16 AaBb	1/16 Aabb
¼ aB	1/16 AaBB	1/16 AaBb	1/16 aaBB	1/16 aaBb
¼ ab	1/16 AaBb	1/16 Aabb	1/16 aaBb	1/16 aabb

**Proporção genotípica:** 1(AABB) : 2 (AABb) : 1 (AAbb) : 2 (AaBB) : 4 (AaBb) : 2 (Aabb) : 1(aaBB) : 2 (aaBb) : 1 (aabb).

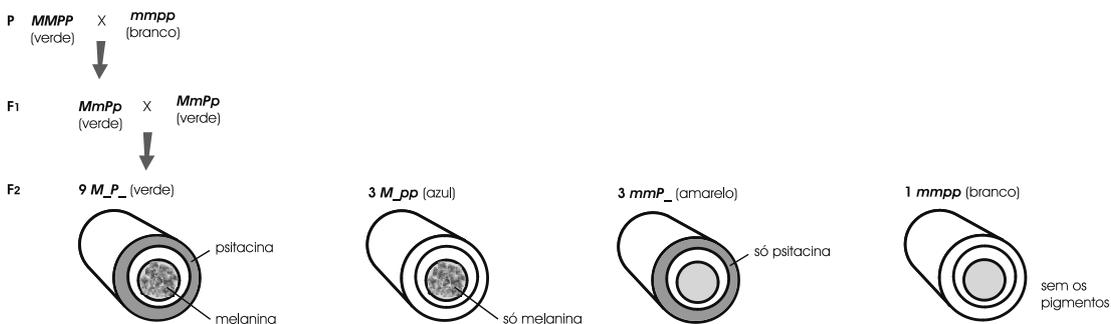
**Proporção fenotípica:** 9 (A\_B\_) : 3 (A\_bb) : 3 (aaB\_) : 1 (aabb).

No caso da plumagem dos periquitos australianos, um dos genes envolvidos controla a presença de um pigmento amarelo, psitacina, que se concentra na periferia das fibras da pena. O outro gene controla a deposição de melanina no centro das fibras da pena. Os periquitos que possuem os alelos normais desses dois genes depositam tanto a psitacina quanto a melanina e possuem penas de cor verde. Os periquitos duplo-homozigóticos para os alelos mutantes desses genes são incapazes de depositar tanto um pigmento quanto o outro e possuem as penas brancas. Os periquitos amarelos são aqueles capazes de depositar psitacina, mas não melanina. E os periquitos azuis são aqueles capazes de depositar melanina, mas não psitacina (Figura 15.3).

A cor azul resulta do efeito causado pela dispersão de luz nas camadas superficiais das fibras da pena contra o fundo escuro de melanina, no centro das fibras. Esse é um efeito semelhante ao que produz a cor azul do céu e dos olhos na espécie humana.



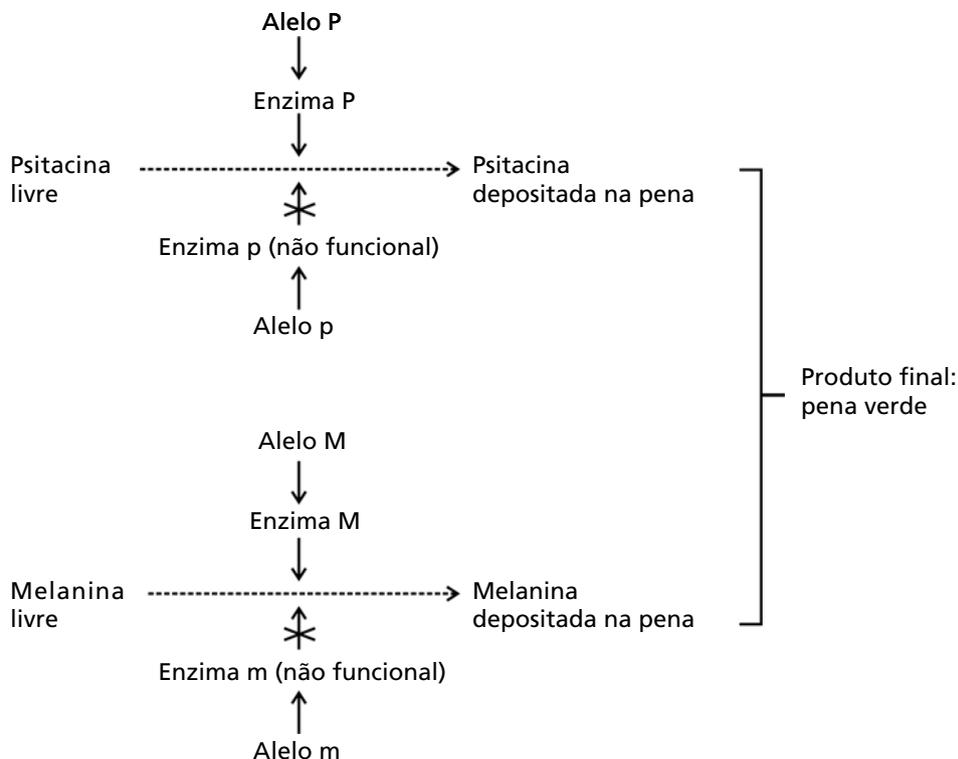
**Figura 15.2:** Periquito australiano.



**Figura 15.3:** Cruzamento diíbrido a partir de duas linhagens puras de periquitos com penas verdes e brancas. O gene *M* é responsável pela deposição de melanina no centro das fibras da pena, possuindo, pelo menos, dois alelos: *M*, que condiciona a deposição de melanina, e *m*, que não condiciona a deposição de melanina. O gene *P* é responsável pela presença de psitacina na periferia das fibras da pena, possuindo, pelo menos, dois alelos: o alelo *P*, que determina a presença de psitacina, e o alelo *p*, que causa a ausência da psitacina. O símbolo “\_” indica que o alelo nesta posição pode ser o dominante ou recessivo.

O Esquema 1 apresenta uma possível explicação para as vias metabólicas envolvidas na determinação do padrão de cor da plumagem em periquitos. Como já vimos, cada etapa de uma via metabólica é catalisada por uma enzima, que por sua vez é o produto da transcrição e tradução de um gene. Quando esse gene sofre uma mutação, seu produto, ou seja, a enzima resultante, pode não ser mais capaz de realizar a sua função e a via será interrompida na etapa correspondente.

Esquema 1:



O caso apresentado sobre a determinação genética da cor da pelagem nos periquitos é um caso típico de **interação gênica**, onde o fenótipo de uma característica é determinado pela ação conjunta de dois ou mais genes.

## **EPISTASIA: UM CASO ESPECIAL DE INTERAÇÃO GÊNICA**

Um tipo especial de interação gênica ocorre quando o fenótipo produzido pelo alelo de um gene mascara o fenótipo produzido pelo alelo de outro gene. Esse tipo de interação é chamado **epistasia**. E o alelo que mascara ou bloqueia o fenótipo de outro gene é chamado **alelo epistático**. O termo epistático vem de uma palavra grega que quer dizer ‘por sobre’. Os alelos epistáticos podem ser dominantes ou recessivos quando consideramos sua relação com seus **alelos homólogos**.

Vejamos alguns exemplos.

### **Caso 1 – epistasia recessiva**

Os cães labradores possuem três cores possíveis de pelagem: preta, chocolate e dourada. Embora a cor da pelagem em cães possua uma herança bastante complexa com a participação de vários genes, essa variação na cor da pelagem dos cães labradores depende de dois genes. O gene *B*, que condiciona a produção de pigmentos, possui dois alelos. O alelo **B** produz pigmento preto e é dominante sobre o alelo **b**, que produz pigmento marrom. Um outro gene *E* controla a deposição no pêlo do pigmento produzido pelo gene *B*. Neste gene o alelo **E** é dominante sobre o alelo **e**, sendo que o primeiro condiciona a deposição do pigmento e o segundo, não.



Que fenótipos teriam, então, os cães com os seguintes genótipos:

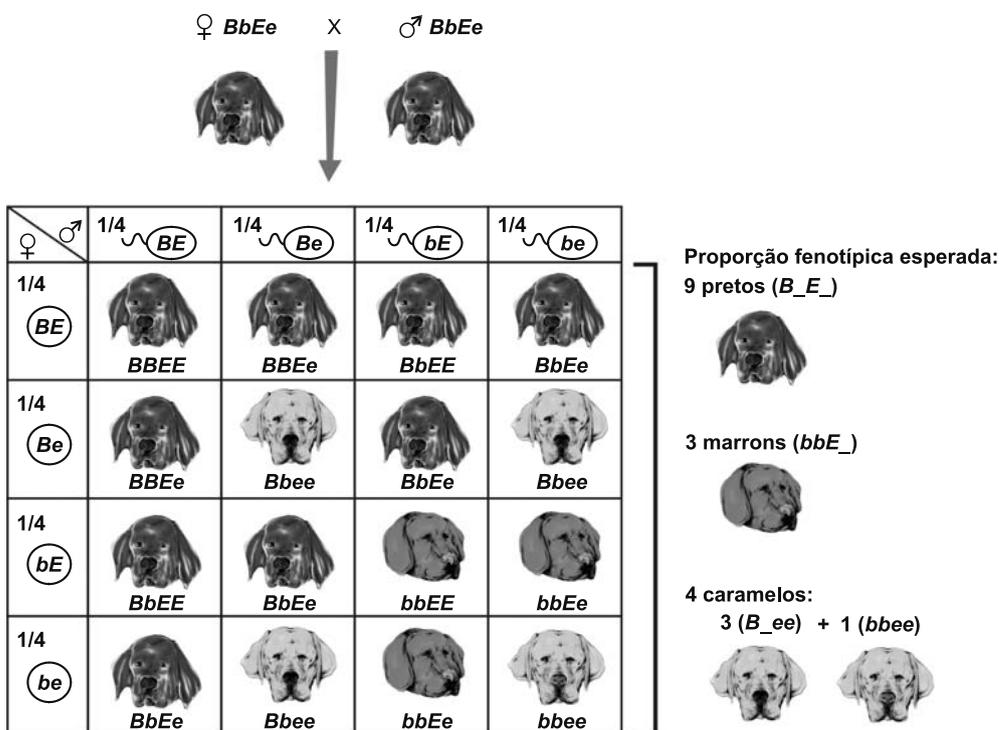
$B\_E\_$  \_\_\_\_\_

$bbE\_$  \_\_\_\_\_

$B\_ee$  \_\_\_\_\_

$bbee$  \_\_\_\_\_

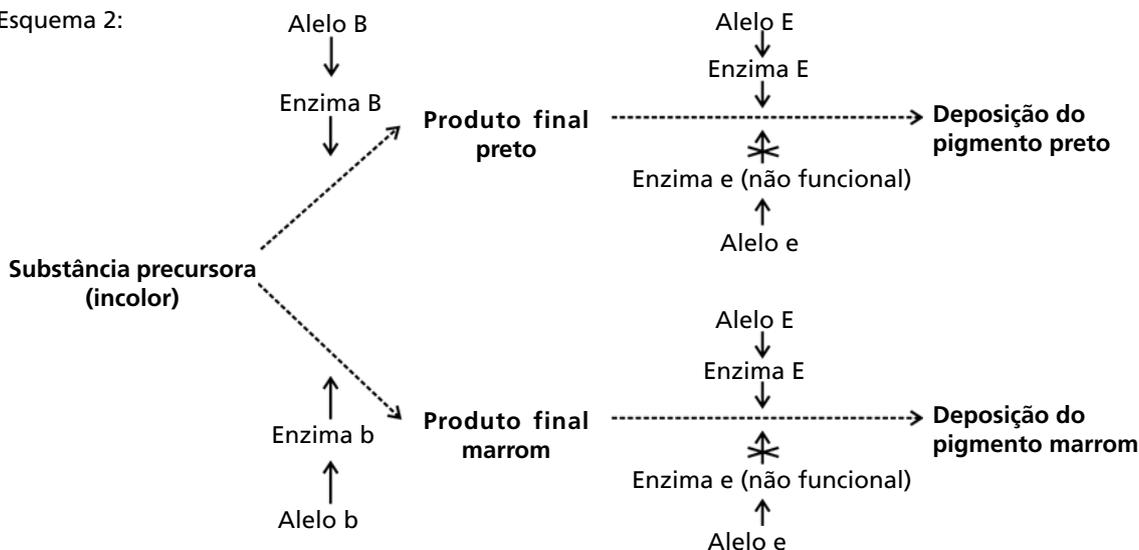
E qual seria o resultado do cruzamento entre dois cães duplo-heterozigóticos? Confira no quadro da **Figura 15.4**.



**Figura 15.4:** Proporções fenotípicas esperadas no cruzamento de cães labradores duplo-heterozigóticos para os genes  $B$  e  $E$ , responsáveis pela variação na cor da pelagem nessa raça.

Observamos que a proporção esperada será de 9 pretos (B\_E\_): 3 marrons (bbE\_): 4 caramelos (B\_ee e bbee), pois sempre que o alelo *e* está em homozigose, independente de que genótipo esteja presente no gene *B*, não há deposição de pigmento e o fenótipo será caramelo. Dizemos que o alelo *e* é epistático recessivo. Veja no Esquema 2 uma possível explicação para as vias metabólicas envolvidas na determinação do padrão de pelagem em cães labradores.

Esquema 2:



### Caso 2 – epistasia dominante

A cor verde, amarela ou branca em uma espécie de abóbora é o resultado da interação entre dois genes. O alelo *G* de um dos genes é dominante sobre o alelo *g*, sendo que o primeiro determina a cor amarela do fruto, enquanto o segundo determina a cor verde. No outro locus, o alelo *W* é dominante sobre o alelo *w* e sempre que presente condiciona o fenótipo cor branca, independente do genótipo apresentado para o locus *G*. O alelo *W* é dito epistático dominante.

O cruzamento entre duas plantas duplo-heterozigóticas produziria as seguintes proporções genotípicas:

WwGg	x	WwGg	
branca		branca	
↓			
9 W_G_		Branca	
3 W_gg		Branca	
3 wwG_		Amarela	
1 wwgg		Verde	

As proporções fenotípicas seriam 12 brancas ( $W\_G\_$  e  $W\_gg$ ) : 3 amarelas ( $wwG\_$ ) : 1 verde ( $wwgg$ ).

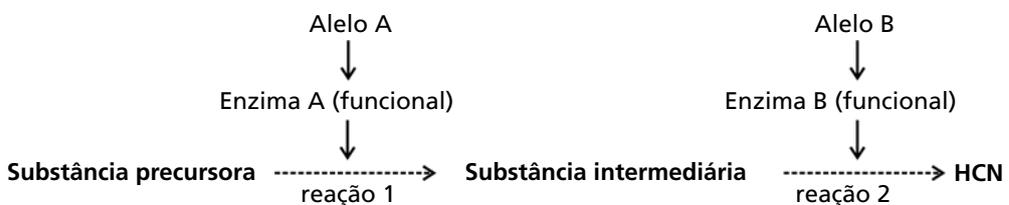
A cor do fruto nessa espécie é determinada pela presença de um tipo de carotenóide amarelo e pela presença de clorofila. Durante o amadurecimento, o fruto perde a clorofila e torna-se amarelo, sendo o alelo  $G$  responsável pela eliminação da clorofila. As plantas com genótipo  $gg$  não são capazes de eliminar a clorofila e se mantêm verdes. O modo de ação do gene que chamamos de  $W$  não está esclarecido, mas podemos imaginar que a proteína codificada pelo alelo  $W$  é capaz de inibir tanto o efeito da clorofila quanto do carotenóide na determinação da cor.

### Caso 3 – Genes com ações complementares

No trevo, a presença de ácido cianídrico (HCN) é condicionada por, pelo menos, dois genes que codificam enzimas que participam da via metabólica de formação desse ácido.

Chamaremos os genes que codificam as enzimas que catalisam as reações 1 e 2 de gene  $A$  e gene  $B$ , respectivamente. O alelo  $A$  do gene  $A$  produz a enzima funcional e o alelo mutante  $a$  produz uma enzima não funcional. De forma semelhante para o gene  $B$ , o alelo  $B$  produz a enzima funcional e o alelo  $b$  produz a enzima não funcional.

Esquema 3:



Note que, para uma planta de trevo possuir o ácido cianídrico, é necessário que essa planta possua pelo menos um alelo de cada um desses dois genes que produza enzima funcional ( $A\_B\_$ ). Caso a planta seja homozigótica para o alelo  $a$  ( $aaB\_$ ), ela não possuirá a enzima capaz de catalisar a reação 1 e a via de síntese de HCN será interrompida. Caso a planta seja homozigótica para o alelo  $b$  ( $A\_bb$ ), a primeira reação será concluída, mas a segunda não. A planta terá formado a substância intermediária, mas não o HCN.

E no resultado do cruzamento entre plantas diíbridas (AaBb), que proporção fenotípica deveremos esperar?

AaBb x AaBb



- 9 A\_B\_ HCN presente
- 3 A\_bb HCN ausente
- 3 aaB\_ HCN ausente
- 1 aabb HCN ausente

A proporção fenotípica seria 9 plantas com HCN presente : 7 plantas com HCN ausente. Nesse caso, tanto a presença em homozigose do alelo recessivo de um dos genes quanto do outro resulta no mesmo fenótipo.

### Caso 4 – duplicação gênica

Alguns genes podem estar representados no genoma em mais de uma cópia. Isso explicaria os resultados observados para certas características como, por exemplo, a forma do fruto de *Capsella bursa-pastoris*. Nessa planta, o fruto pode ser em forma de coração ou alongado. A Figura 15.5 apresenta o cruzamento de duas linhagens puras dessa planta que contrastam quanto à forma do fruto. Na F1, observam-se todas as plantas com frutos em coração e, na F2, uma proporção de 15 frutos em coração para 1 alongado. Como a duplicação gênica poderia explicar esse resultado? Imagine que o gene *K* está duplicado no genoma de *Capsella bursa-pastoris*, possuindo em cada uma das cópias um alelo que determine a forma do fruto em coração ( $K_1$  e  $K_2$ ), que domina o alelo para a forma do fruto alongado ( $k_1$  e  $k_2$ ). As classes com genótipos  $K_1K_2$ ,  $K_1k_2$  e  $k_1K_2$  apresentariam o mesmo fenótipo, pois bastaria que um dos alelos de uma das cópias fosse o alelo dominante para determinar o tal fenótipo.

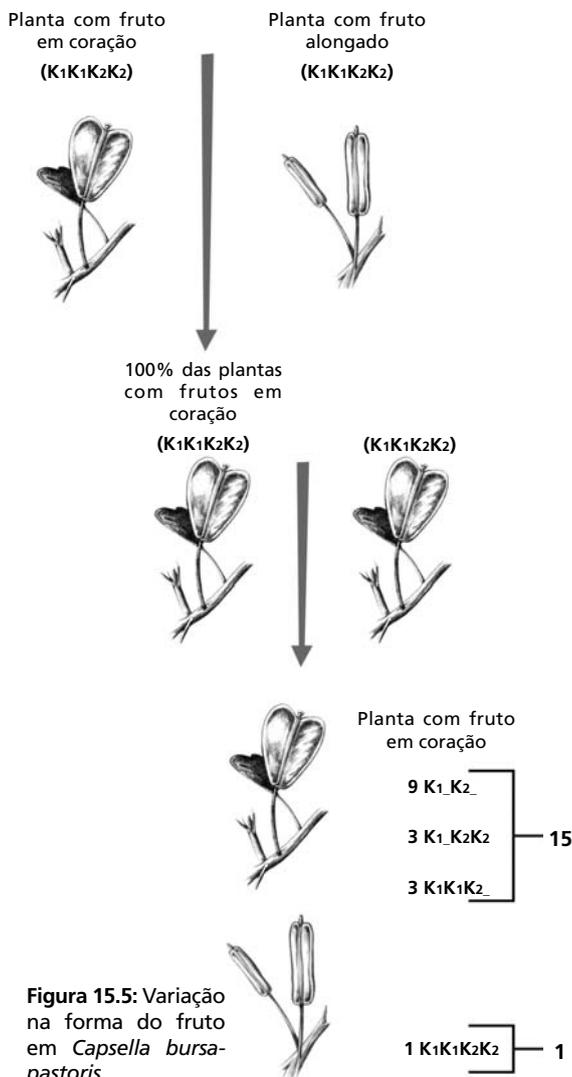


Figura 15.5: Variação na forma do fruto em *Capsella bursa-pastoris*.



O termo dominância só deve ser usado quando tratamos das relações entre alelos de um mesmo gene. Ao tratarmos da relação entre alelos de genes diferentes dizemos que há epistasia.

## A HERANÇA DA COR DOS OLHOS DE DROSÓFILA: UM EXEMPLO BEM CONHECIDO DE INTERAÇÃO ENTRE VÁRIOS GENES

Em *Drosophila melanogaster* (Figura 15.6) já estão descritos, pelo menos, 100 genes envolvidos na determinação da cor dos olhos. Alguns codificam enzimas que participam das vias metabólicas de formação dos pigmentos dos olhos, outros participam da deposição desses pigmentos nos omatídeos (uma unidade visual que compõe os olhos compostos dos insetos).

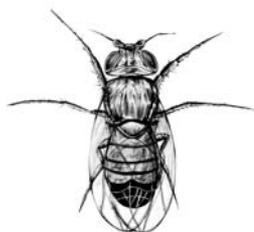


Figura 15.6: *Drosophila melanogaster*.

A cor dos olhos nos indivíduos selvagens de *D. melanogaster* é vermelho-escuro, resultado da combinação de dois pigmentos, um vermelho-claro (pterina) e outro marrom (omocromo). A síntese de cada um desses pigmentos é feita através de complexas vias metabólicas que envolvem diversas etapas enzimáticas. Na Figura 15.7 está o esquema de parte da via metabólica de produção do pigmento marrom. A síntese do pigmento vermelho também requer várias etapas, mas estas não são tão bem conhecidas.

Havendo a interrupção na via de formação do pigmento marrom, os olhos das drosófilas passam a ter só o pigmento vermelho-claro. Por outro lado, se a via de formação do pigmento vermelho for interrompida, as drosófilas apresentam olhos de cor marrom.

Vejam o exemplo da via de síntese do pigmento marrom (Figura 15.7). A transformação do triptofano em n-formilquinurenina depende da enzima triptofano pirrolase. O gene que codifica essa enzima chama-se *vermillion*, está localizado no cromossomo X e seu alelo  $v^+$  codifica a enzima normal. Esse gene possui também alelos mutantes conhecidos, como o alelo  $v$ , que codifica uma versão da enzima triptofano pirrolase defeituosa, incapaz de realizar a etapa correspondente da reação. Assim, um indivíduo que possui o genótipo  $vv$  não produz a enzima normal. Sua via metabólica é interrompida, acumulando triptofano e, conseqüentemente, não produzindo o pigmento marrom e apresentando fenótipo cor dos olhos vermelho-claro.

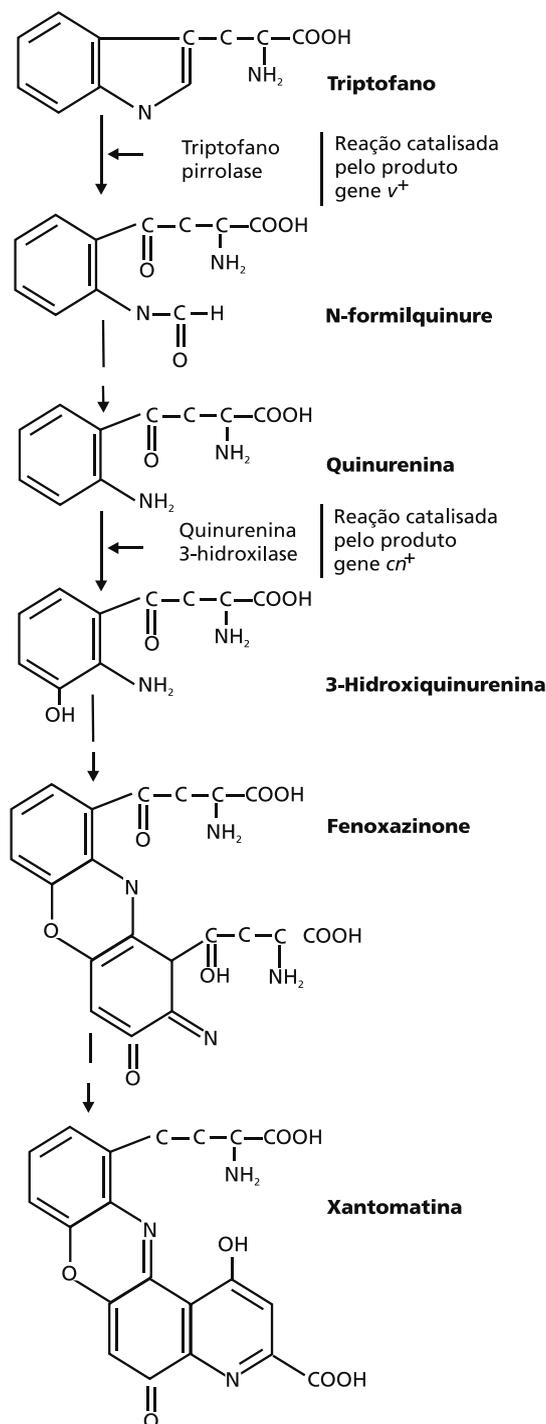
Mas quando observamos uma *D. melanogaster* com os olhos de cor vermelho-claro não podemos afirmar que houve uma mutação no gene *vermillion*. Mutações em qualquer dos outros genes que codificam as enzimas participantes dessa via resultariam no mesmo fenótipo. Por exemplo, o gene *cinnabar*, que está localizado no cromossomo 2 e codifica a enzima quinurenina-3-hidroxilase (Figura 15.7). Caso o indivíduo fosse homozigótico para um alelo (*cn*) que codifique uma versão não funcional dessa enzima, esse indivíduo também teria os olhos vermelho-claros pela falta do pigmento marrom. A diferença entre o mutante *vv* e o mutante *cn* seria apenas o ponto em que a via seria interrompida.

Podemos pensar num processo semelhante ocorrendo na via metabólica de síntese do pigmento vermelho. O gene *brown*, que está localizado no cromossomo 2, codifica uma das enzimas que participa da via de síntese do pigmento vermelho. Homozigotos para o alelo não funcional *br* não sintetizam pigmento vermelho e têm olhos marrons.

Como seria o fenótipo de um indivíduo duplo-homozigótico *vbrbr*?

Na falta dos dois pigmentos, os olhos serão brancos.

Mas há uma outra causa possível para os olhos das drosófilas serem brancos. Não basta sintetizar os pigmentos, eles precisam ser também distribuídos no olho e em alguns outros órgãos da mosca. Essa deposição é feita por proteínas. O gene *white* é um dos genes responsáveis pela codificação de proteínas com essa função. Se a proteína codificada pelo gene *white* não funcionar corretamente, os pigmentos, mesmo que estejam sendo sintetizados, não serão depositados e os olhos serão brancos.



**Figura 15.7:** Via metabólica de síntese do pigmento marrom em *Drosophila melanogaster*. Cada seta representa uma etapa da via. As setas interrompidas indicam que uma ou mais etapas foram suprimidas.

Como podemos concluir, um mesmo fenótipo pode ter causas genéticas diferentes. Indivíduos que possuem um mesmo fenótipo, mas devido a causas genéticas diferentes, são ditos **genocópias**.

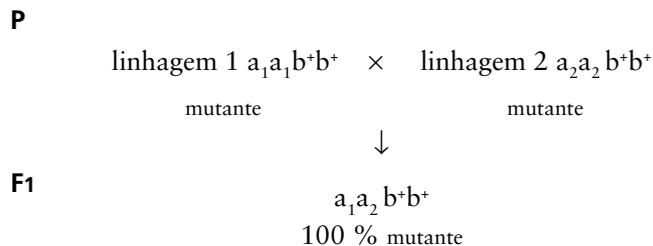
### TESTE DE COMPLEMENTAÇÃO: UM TESTE PARA IDENTIFICAR GENOCÓPIAS

Em estudos genéticos, é bastante comum estarmos interessados em identificar se dois indivíduos ou linhagens, que apresentam um mesmo fenótipo mutante recessivo, resultam de mutações em um mesmo gene ou em dois genes diferentes. Como poderíamos responder a essa pergunta?

Vamos por partes. Considere que dois genes estejam envolvidos na determinação de uma característica, segundo uma via metabólica semelhante à apresentada no Esquema 3. Um dos genes chamaremos de *A*, cujo alelo normal funcional será  $a^+$  e os alelos mutantes não funcionais  $a_1$  e  $a_2$ ; o outro chamaremos de *B*, com o alelo  $b^+$  normal funcional e o alelo  $b_1$  mutante não funcional.

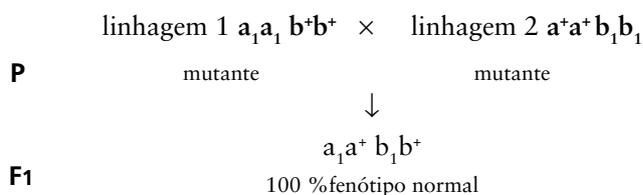
Que resultado seria esperado no cruzamento entre duas linhagens com fenótipos mutantes se:

*POSSIBILIDADE 1* – A mutação em ambas as linhagens é condicionada por alelos diferentes do mesmo gene.



Nesse caso, a prole será toda mutante, pois continuará não tendo nenhum alelo normal para o gene *A*.

**POSSIBILIDADE 2** – Cada uma das linhagens sofreu mutação em um gene diferente. A mutação na linhagem 1 ocorreu no gene *A*, ao passo que a mutação na linhagem 2 ocorreu no gene *B*.



Nesse caso a prole será toda normal, pois possuirá um alelo normal para cada um dos genes.

Ops!!! Há uma diferença fundamental entre os resultados para as duas possibilidades. **O aparecimento de indivíduos normais na prole de dois indivíduos mutantes indica que as mutações nos parentais são em genes diferentes.**

Assim, ao realizarmos o cruzamento entre dois indivíduos ou duas linhagens para verificar se o fenótipo apresentado por elas resulta de alelos recessivos de um mesmo gene ou de dois genes diferentes, estamos realizando um **teste de alélismo**, também conhecido como **teste de complementação**. No entanto, esse teste é usado não só para testar genocópias, pois alelos mutantes de um mesmo gene também podem resultar em fenótipos diferentes. Por exemplo, quando em homozigose, os alelos mutantes recessivos *w* (*white*) e *e* (*eosin*) para o gene *white* em *Drosophila melanogaster* condicionam cor do olho branca e laranja-claro, respectivamente. Utilizando o teste de alélismo, podemos verificar que estes dois alelos são, de fato, alelos do mesmo gene.

Na nossa próxima aula, veremos um outro tipo de interação gênica em que o efeito cumulativo de vários genes, cada um dos quais contribuindo com uma parcela na determinação do fenótipo, resulta em características que apresentam variação contínua, como, por exemplo, o peso e a altura na espécie humana.

**RESUMO**

Em várias características, os alelos de mais de um gene podem interagir na determinação do fenótipo, fenômeno que chamamos de interação gênica. Quando dois ou mais genes influenciam uma característica, um alelo de um deles pode ter um efeito bloqueador sobre o fenótipo, sendo dito epistático em relação a outros alelos envolvidos.

As proporções fenotípicas resultantes do cruzamento entre indivíduos diíbridos para genes que determinam uma mesma característica podem sofrer desvios do esperado pelas leis mendelianas, dependendo das relações entre os alelos desses genes. Confira alguns exemplos no quadro a seguir.

Tipo de interação	Proporções esperadas no cruzamento diíbrido, considerando 2 genes em cromossomos diferentes				
	9 A_B_	3 A_bb	3 aaB_	1 aabb	
Simple	9	3	3	1	9:3:3:1
Epistasia recessiva	9	3	4		9:3:4
Epistasia dominante	12		3	1	12:3:1
Genes com ações complementares	9	7			9:7
Genes duplicados	15			1	15:1

O resultado do teste de complementação, cruzamento entre dois indivíduos mutantes, pode indicar se os fenótipos mutantes resultam de mutações em um mesmo gene ou em genes diferentes. O aparecimento de indivíduos normais na F1 do cruzamento entre dois indivíduos mutantes indica que as mutações nos parentais são em genes diferentes.



- b) os alelos recessivos não produzem nenhum tipo de pigmento e cada alelo dominante condiciona a produção de uma quantidade X de um mesmo pigmento.
- c) basta ter um alelo dominante de qualquer dos dois genes para apresentar o fenótipo A; no caso de os dois genes estarem na condição homozigótica recessiva, o fenótipo será B.

7. Em rabanetes, a forma da raiz pode ser arredondada, ovalada ou alongada. Cruzamentos entre plantas de raiz alongada e plantas de raiz arredondada produziram apenas indivíduos com raiz ovalada. Em cruzamentos desses indivíduos entre si foram obtidos 400 descendentes, dos quais 100 apresentaram raízes alongadas, 195 apresentaram raízes ovaladas e 105 apresentaram raízes arredondadas.

- a) Proponha uma hipótese para explicar esses resultados.
- b) Com base na sua hipótese faça um diagrama do cruzamento e compare os resultados observados com os esperados de acordo com o diagrama.
- c) Os resultados obtidos estão de acordo com as leis mendelianas? Explique.

8. Em abóboras, a forma do fruto pode ser discóide, esférica ou alongada. Uma variedade pura de frutos discóides foi cruzada com uma variedade pura de frutos alongados. A geração  $F_1$  foi inteiramente constituída por plantas de frutos discóides. A autofecundação das plantas  $F_1$  produziu 80 descendentes, dos quais 30 tinham frutos esféricos, 5 tinham frutos alongados e 45 tinham frutos discóides.

- a) Proponha uma hipótese para explicar esses resultados.
- b) Com base na sua hipótese, faça um diagrama do cruzamento e compare os resultados observados com os esperados de acordo com o diagrama.
- c) Os resultados obtidos estão de acordo com as leis mendelianas? Explique.

9. Em uma certa linhagem de animais foram identificados dois genes com segregação independente afetando a massa. Os alelos dominantes condicionam, cada um, um acréscimo de 10 gramas à massa básica de 50 gramas do duplo-recessivo. Determine a massa máxima e a mínima na descendência de um cruzamento  $Aabb \times AaBB$ .

10. A pigmentação da plumagem em uma certa linhagem de galinhas é condicionada por dois genes com segregação independente. O alelo dominante de um dos genes (**C**) condiciona a produção de pigmento, enquanto o alelo recessivo (**c**) é inativo, condicionando cor branca. O alelo dominante do outro gene (**I**) inibe a formação de pigmento, enquanto o alelo recessivo (**i**) não o faz.

a) Determine a proporção fenotípica em um cruzamento entre dois indivíduos duplo-heterozigóticos.

b) Esquematize uma possível via metabólica para a produção desse pigmento, indicando a ação de cada alelo dos genes C e I.

11. Nos cruzamentos a seguir, determine o mais provável tipo de herança. Considere que a geração parental é sempre homozigótica.

	Caráter	Cruzamento	F1	F2
<b>Boca-de-leão</b>	Cor da flor	branca x púrpura	100% brancas	240 brancas 61 púrpuras 19 verdes
<b>Sálvia</b>	Cor da flor	rosa x branca	100% violeta	225 violetas 92 rosas 114 brancas
<b>Camundongos</b>	Cor do pêlo	preto x albino	100% agouti	56 agouti 17 pretos 22 albinos
<b>Tomate</b>	Tamanho da planta e tipo do caule	alta sem cerda x anã com cerdas longas	100% altas com cerdas curtas	3 altas sem cerdas 6 altas com cerdas curtas 3 altas com cerdas longas 1 anã sem cerdas 2 anãs com cerdas curtas 1 anã com cerdas longas

12. Utilize o teste do qui-quadrado para verificar se o resultado obtido no cruzamento entre os camundongos da questão 11 está de acordo com a sua hipótese.

**ATIVIDADE 1:**

O câncer é uma doença cuja manifestação depende da interação de vários genes. Atualmente, já conhecemos como alguns desses genes se relacionam para produzir alguns tipos de câncer na espécie humana. Faça uma pesquisa sobre a Genética do Câncer. Você pode escolher o que prefere enfatizar dentro desse assunto, pois ele é muito vasto. Apresente seus resultados no fórum da plataforma CEDERJ, para serem compartilhados e discutidos com seus colegas e tutores. Entre em contato com o seu tutor a distância e participe.

# Introdução à Genética Quantitativa: análise de características contínuas

# AULA 16

## objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Reconhecer a importância evolutiva dos caracteres quantitativos.
- Entender como a herança complexa dos caracteres quantitativos pode ser explicada através das leis da hereditariedade propostas por Mendel.
- Descrever a variação fenotípica de uma população através da média e da variância.

### Pré-requisitos

Compreender os fundamentos da Teoria Evolutiva.

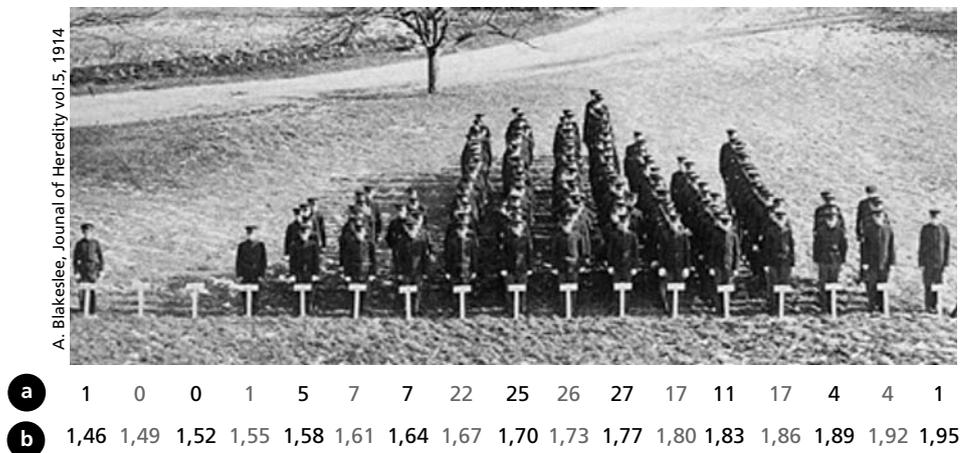
Possuir noções básicas de Estatística: população, amostra, variabilidade de uma medida, variável aleatória. Saber calcular os parâmetros de posição e de dispersão de uma distribuição de frequências.

Bioestatística.

## INTRODUÇÃO

Vimos, até agora, que diversos caracteres nos mais diferentes organismos podem ser divididos em classes fenotípicas distintas, como, por exemplo, flor branca ou vermelha; ervilha lisa ou rugosa; indivíduo normal ou albino. Este tipo de variação, na qual o caráter apresenta apenas estados contrastantes, é chamado **variação fenotípica discreta**.

Entretanto, quando observamos os indivíduos das populações naturais, podemos identificar que, para muitos de seus caracteres, a **variação fenotípica** observada entre os indivíduos é **contínua**, ou seja, os fenótipos dos indivíduos não podem ser divididos em classes distintas, pois apresentam diferenças graduais (**Figura 16.1**).

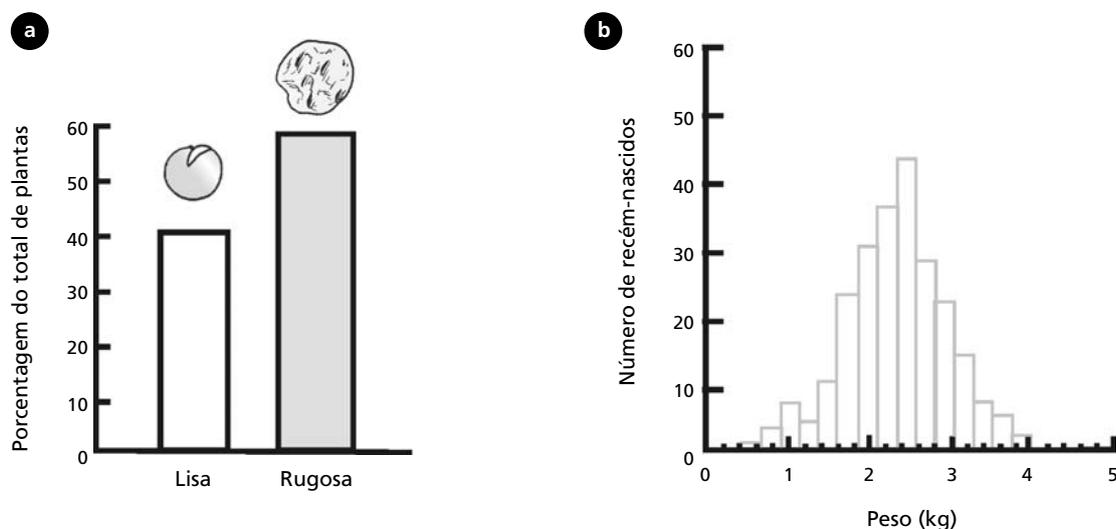


**Figura 16.1:** Variação fenotípica contínua de tamanho encontrada em um grupo de recrutas. a) número de indivíduos por tamanho; b) tamanho dos indivíduos medido em metro.

Você seria capaz de dividir em classes discretas a variação na produção de leite entre vacas de um rebanho? Ou poderia atribuir classes distintas de tamanho aos indivíduos da espécie humana?

Uma maneira eficiente de classificar os fenótipos destes caracteres seria através de um gradiente, onde os indivíduos variam numa escala contínua. Por exemplo, podemos medir a produção de leite ou o peso dos indivíduos em um rebanho bovino; a altura das plantas ou o tempo de floração em uma determinada plantação; ou mesmo o diâmetro dos olhos em uma amostra de peixes de uma população natural.

Portanto, em vez de classes, o fenótipo de cada indivíduo é reduzido a um número e o caráter é então analisado de acordo com a distribuição de fenótipos encontrados na população estudada (**Figura 16.2**).



**Figura 16.2:** Diferentes tipos de distribuição da variação fenotípica: a) distribuição fenotípica discreta das formas da ervilha; b) distribuição fenotípica contínua do peso de recém-nascidos em uma maternidade.

Os caracteres que apresentam essa distribuição contínua de fenótipos são chamados **caracteres quantitativos** ou **caracteres métricos**, enquanto a variação fenotípica desses caracteres é chamada **variação quantitativa** ou **variação contínua**. Esses caracteres são, em geral, controlados por alelos de vários genes, sendo assim ditos **poligênicos**.

Além do controle genético, os caracteres quantitativos podem ser influenciados por fatores ambientais, possuindo assim, **herança multifatorial**. Com relação ao tamanho, por exemplo, indivíduos bem alimentados têm uma chance maior de alcançar a altura máxima condicionada por seu genótipo do que indivíduos subnutridos. Pense em um par de gêmeos monozigóticos. Eles possuem um mesmo genótipo. Contudo, se um for bem alimentado e o outro subnutrido, observaremos grandes diferenças fenotípicas entre eles. Nas plantas, é muito fácil se obter clones, ou seja, indivíduos que apresentam o mesmo genótipo. Basta que se obtenham várias mudas de uma mesma planta. No entanto, cada muda dará origem a uma planta com características próprias, dependendo do ambiente onde se desenvolva.

Muitos conceitos novos? Para facilitar a assimilação de cada um deles, continue desenvolvendo o seu glossário com os termos utilizados nesta aula.

## A IMPORTÂNCIA EVOLUTIVA DOS CARACTERES QUANTITATIVOS

As principais observações que levaram Charles Darwin a formular sua Teoria da Evolução das espécies através da seleção natural foram obtidas a partir de caracteres que apresentavam variação contínua.

O navio *Beagle* chegou às Ilhas Galápagos, situadas a cerca de 1.000 quilômetros da costa do Equador, em setembro de 1835, e lá permaneceu por pouco mais de um mês. Foi nesse arquipélago tropical que Darwin se impressionou com a existência de uma grande variação fenotípica nos indivíduos de diferentes espécies de plantas e animais. Darwin notou que os fenótipos dos indivíduos eram bastante adaptados às condições ambientais de cada ilha.

Particularmente, Darwin observou que as diferenças no tamanho e na forma dos bicos de 13 espécies de aves marrom-acinzentadas, conhecidas como os tentilhões de Darwin, poderiam estar associadas aos hábitos alimentares dessas espécies. Por exemplo, enquanto uma delas (*Geospiza magnirostris*) possuía um bico consideravelmente grande, bastante arredondado e resistente, para que pudesse quebrar sementes grandes e compactas, outra espécie (*G. scandens*) utilizava seu bico menor, mais delicado e mais alongado, para abrir os frutos de cactos e se alimentar de suas pequenas sementes. Mais do que essa variação entre espécies, Darwin observou que havia também uma variação contínua no tamanho e forma dos bicos de pássaros de uma mesma espécie.

Depois de retornar a Londres e de analisar a fundo as observações feitas no decorrer dos cinco anos de sua viagem, Darwin se convenceu de que as espécies de seres vivos poderiam se modificar gradualmente com o tempo e, eventualmente, levar à formação de uma espécie nova, através de um mecanismo que chamou de **SELEÇÃO NATURAL**. Abaixo estão fragmentos extraídos do livro de Darwin sobre a evolução das espécies, *On the origin of species by means of natural selection*, publicado em 1859:

*Vendo esta gradação e diversidade de estrutura em um grupo pequeno, intimamente relacionado de pássaros, pode-se imaginar que a partir da pequena quantidade original de pássaros neste arquipélago, uma espécie foi escolhida e modificada para diferentes finalidades.*

### SELEÇÃO NATURAL

Processo pelo qual os indivíduos que possuem caracteres mais apropriados ao local (ambiente) e ao momento em que vivem têm chance maior de sobreviver, reproduzir e, possivelmente, transmitir esses caracteres aos seus descendentes. Mas não se esqueça de que essa “chance maior de sobreviver” nem sempre significa que o indivíduo sobreviverá. Eventos aleatórios, como catástrofes naturais ou doenças, podem fazer com que o indivíduo não sobreviva ou não se reproduza mesmo possuindo os caracteres mais bem adaptados ao seu ambiente, naquele momento.

Darwin acreditava, também, que a variação fenotípica contínua deveria ser a base para a evolução de uma espécie, sendo essencial para que as populações pudessem se adaptar a possíveis mudanças nas condições ambientais.

*Há também diversas diferenças pouco expressivas que podem ser denominadas “diferenças individuais” (...) Ninguém iria supor que os indivíduos de uma determinada espécie fossem absolutamente idênticos, como se tivessem sido fundidos num único molde. Essas diferenças individuais são muito importantes para nós, uma vez que fornecem “sugestões” do que poderia ser acumulado através da seleção natural (...).*

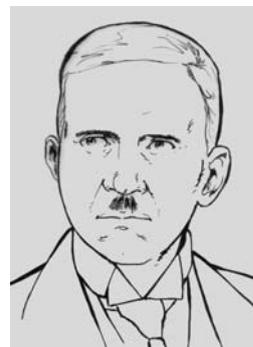
A teoria de Darwin foi, apesar de alguns opositores, amplamente compreendida pela comunidade científica da época, mas era necessário que se estabelecesse o tipo de herança desses caracteres. **Se a variação observada entre os indivíduos fosse apenas resultado de variações no ambiente onde eles se desenvolveram, suas características não seriam transmitidas aos seus descendentes, mesmo que os mais adaptados fossem selecionados.** Reflita um pouco sobre essa afirmação.

Como vimos na nossa primeira aula, Darwin procurou uma explicação para a transmissão da herança biológica, porque esse conhecimento era fundamental para a compreensão de como os caracteres quantitativos evoluem por seleção natural, sendo transmitidos ao longo das gerações.

## A HERANÇA COMPLEXA DOS CARACTERES QUANTITATIVOS

Após a redescoberta dos trabalhos de Mendel, no início do século XX, havia um grande debate quanto à questão da herança de caracteres contínuos, base da teoria da evolução proposta por Darwin. Alguns cientistas chegaram a afirmar que a simplicidade dos princípios de segregação e distribuição independente propostos por Mendel não poderia explicar os padrões de herança complexos observados para esses caracteres.

Em 1909, o geneticista **HERMAN NILSSON-EHLE** publicou um trabalho com as primeiras evidências de que a herança complexa desses caracteres poderia ser explicada pelas leis de Mendel.



**HERMAN  
NILSSON-EHLE  
(1873-1949)**

Geneticista e botânico sueco que demonstrou o envolvimento de mais de um gene no controle de um caráter quantitativo.

Vejamos o trabalho desenvolvido por Nilsson-Ehle.

Após um cruzamento de uma linhagem pura de trigo de grãos brancos com uma linhagem pura de grãos vermelho-escuros, Nilsson-Ehle encontrou na F1 apenas grãos com uma cor vermelha-intermediária. No entanto, na geração F2 ele obteve sete classes fenotípicas diferentes que variavam de maneira gradual quanto à cor: de grãos brancos até grãos vermelho-escuros.

Os indivíduos da F2 que apresentavam um dos fenótipos parentais eram encontrados na proporção de, aproximadamente, 1/64, tanto para indivíduos com o fenótipo parental grãos brancos quanto para indivíduos com o fenótipo parental grãos vermelho-escuros.

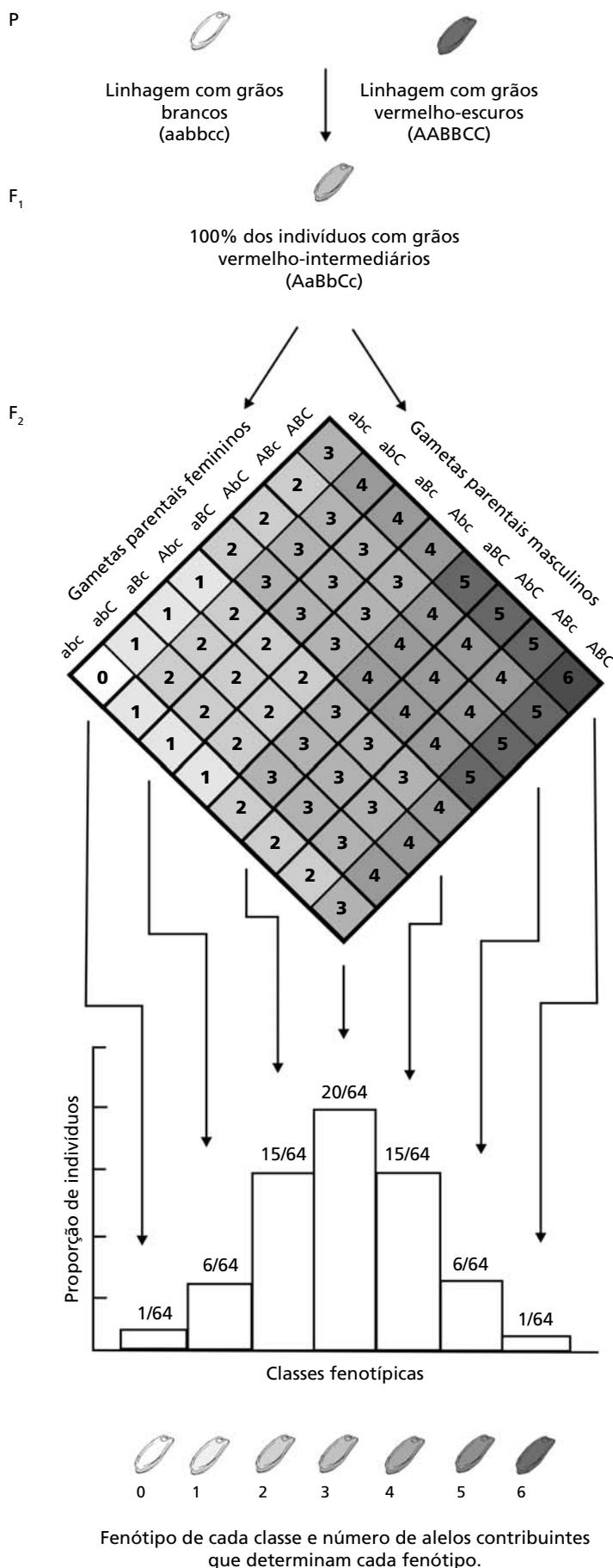
Note que se apenas um gene estivesse condicionando a variação dessa característica, deveríamos esperar que surgissem apenas três classes fenotípicas na F2 com frequências de 1/4 de grãos brancos : 2/4 de grãos de cor intermediária : 1/4 de grãos vermelho-escuros. Ou seja, os indivíduos da F2 com fenótipo igual a um dos parentais deveriam aparecer com frequência de 1/4, e não 1/64. O que estaria acontecendo?

Nilsson-Ehle elaborou, então, uma hipótese para explicar esses resultados na qual três genes deveriam estar envolvidos na determinação da cor do grão de trigo. Cada um dos três genes possuiria dois tipos de alelos, um tipo que seria capaz de produzir o pigmento vermelho, o alelo contribuinte (representado por letra maiúscula), e um outro tipo que não seria capaz de produzir o pigmento vermelho, o alelo não-contribuinte (representado por letra minúscula). Dessa forma, a cor de grão no trigo seria determinada de acordo com o número de alelos contribuintes para a cor vermelha que a planta possuísse, já que cada um desses **ALELOS ADITIVOS** contribuiria com uma unidade de pigmento vermelho, intensificando a cor do grão de maneira aditiva.

Segundo essa hipótese, portanto, as plantas parentais que produziam grãos brancos teriam o genótipo **aabbcc**, sendo brancas por não possuírem nenhum alelo contribuinte. As plantas parentais que produziam grãos vermelho-escuros teriam o genótipo **AABBCC**, possuindo todos os seis alelos do tipo contribuinte. A geração F1 seria formada por indivíduos triplo-heterozigóticos **AaBbCc** que possuiriam cor intermediária graças aos seus três alelos contribuintes. O cruzamento entre os indivíduos da F1 produziria uma F2 com sete classes fenotípicas diferentes, nas proporções de 1/64 : 6/64 : 15/64 : 20/64 : 15/64 : 6/64 : 1/64, conforme pode ser observado na **Figura 16.2**.

#### **ALELOS ADITIVOS**

Diz-se dos alelos que contribuem de maneira independente para o fenótipo, sendo o fenótipo final a soma da contribuição de cada alelo.



**Figura 16.3:** Ilustração dos cruzamentos realizados por Nilsson-Ehle. A intensidade da cor do grão de trigo é determinada pelo número de alelos contribuintes (números no diagrama), representados por letras maiúsculas, presentes em cada planta.

**ALELOS SEGREGANTES**

Diz-se dos alelos distintos de um mesmo gene, que produzirão dois tipos de gametas quanto a esse gene. Por exemplo, indivíduos com genótipo heterozigótico **Aa** possuem alelos segregantes para o gene **A**, e produzem dois tipos de gametas com relação a esse gene. Já indivíduos com genótipo homozigótico **AA** ou **aa** não possuem alelos segregantes para o gene **A** e, portanto, não produzem gametas distintos quanto a esse gene.

A partir das informações obtidas no experimento de Nilsson-Ehle, podemos estimar o número de genes (*n*) envolvidos no controle de um caráter quantitativo e o número de classes fenotípicas e genotípicas esperadas na F2 de um cruzamento entre linhagens homozigóticas com **ALELOS** aditivos **SEGREGANTES**, ou seja, diferentes entre as linhagens parentais (**AAbbCCDD** x **aaBBccdd**, por exemplo), o que resulta em uma F1 com indivíduos heterozigóticos para todos os genes envolvidos.

Se existem *n* genes com alelos aditivos segregantes, podemos esperar **2*n* + 1** classes fenotípicas e **3<sup>*n*</sup>** classes genotípicas na F2 do cruzamento entre linhagens puras. Portanto, para um gene existem três classes fenotípicas e três genotípicas (**AA**, **Aa** e **aa**); para dois genes, existem cinco classes fenotípicas e nove classes genotípicas (**AABB**, **AABb**, **AaBB**, **AAbb**, **AaBb**, **aaBB**, **Aabb**, **aaBb** e **aabb**); e assim por diante (**Quadro 16.1**).

Podemos estimar, também, a proporção esperada na F2 de indivíduos com o mesmo genótipo e o mesmo fenótipo das linhagens parentais, já que essas linhagens representam as classes genotípicas e fenotípicas mais raras na F2. Considerando apenas um gene, a proporção esperada na F2 de indivíduos com um dos genótipos parentais é 1/4 (**1/4 AA : 2/4 Aa : 1/4 aa**). Para mais de um gene, essa proporção será de **(1/4)<sup>*n*</sup>**, onde *n* é o número de genes com alelos segregantes envolvidos no controle do caráter.

Agora acompanhe e complete o **Quadro 16.1**:

**Quadro 16.1:** Cálculo do número de classes fenotípicas e genotípicas e da proporção fenotípica de indivíduos com um dos fenótipos parentais esperados na F2 de um cruzamento entre linhagens com alelos segregantes para todos os genes envolvidos.

Nº de genes ( <i>n</i> )	Nº de classes fenotípicas esperadas na F2	Nº de classes genotípicas esperadas na F2	Proporção fenotípica esperada na F2 de indivíduos com fenótipo igual a um dos parentais
1	2×1 + 1 = 3	3 <sup>1</sup> = 3	(1/4) <sup>1</sup> = 1/4
2	2×2 + 1 = 5	3 <sup>2</sup> = 9	(1/4) <sup>2</sup> = 1/16
3	2×3 + 1 = 7	3 <sup>3</sup> = 27	(1/4) <sup>3</sup> = 1/64
4			
5			
10			
<i>n</i>			

Logo, o número de genes envolvidos no controle de um caráter quantitativo pode ser determinado através das fórmulas:

1)  $2n + 1 = n^\circ$  de classes fenotípicas observadas na F2;

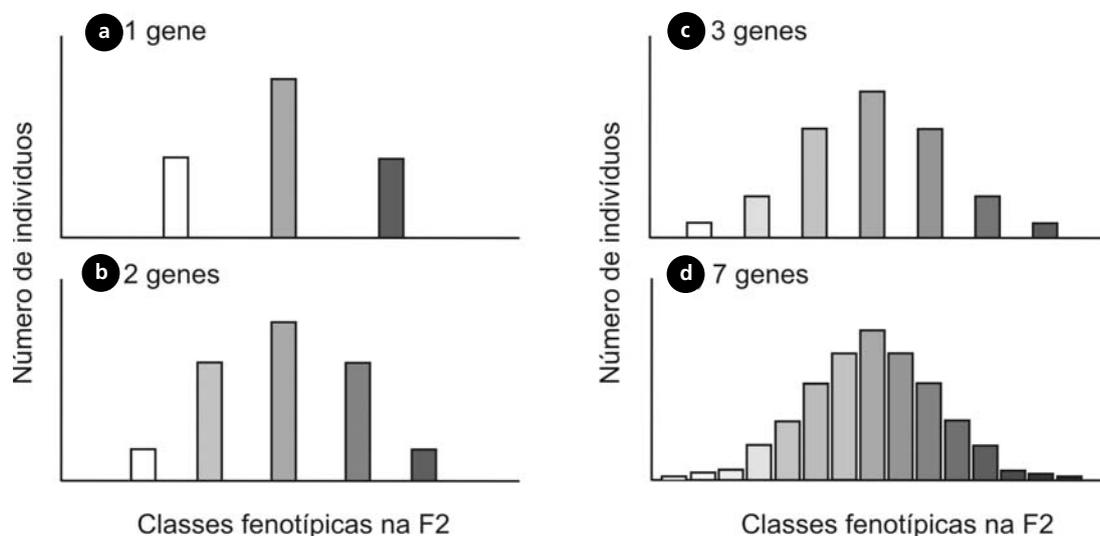
logo:  $n = [(n^\circ \text{ de classes fenotípicas observadas na F2}) - 1] / 2$ .

2)  $(1/4)^n =$  proporção fenotípica esperada na F2 de indivíduos com fenótipo igual a um dos parentais;

logo:  $n = \log(\text{proporção fenotípica observada na F2 de indivíduos com fenótipo igual a um dos parentais}) / \log(1/4)$ .

No entanto, quanto mais genes estiverem envolvidos, mais difícil será a identificação das classes fenotípicas e dos indivíduos com fenótipo parental na F2. Para determinar que oito genes estão condicionando um dado caráter, precisaríamos identificar 17 ( $= 2 \times 8 + 1$ ) classes fenotípicas diferentes ou encontrar um indivíduo a cada 65536 ( $= (1/4)^8$ ) com um dos fenótipos parentais, o que não é uma tarefa fácil.

Na **Figura 16.4**, podemos observar que, quanto maior o número de genes envolvidos na determinação do fenótipo, maior é o número de classes fenotípicas encontradas na F2 e menores são as diferenças entre cada uma das classes. Quando o número de classes fenotípicas na F2 se torna grande demais, como no caso de 10 genes envolvidos, as classes fenotípicas se sobrepõem e a população passa a apresentar uma distribuição fenotípica contínua.



**Figura 16.4:** Distribuição fenotípica na F2 de cruzamentos entre linhagens com alelos segregantes para a) 1 gene, b) 2 genes, c) 3 genes ou d) 7 genes.

O modelo genético aditivo proposto por Nilsson-Ehle mostrou que a transmissão de características que apresentavam variação contínua também poderia ser explicada através das leis mendelianas, desde que considerássemos que essas características eram determinadas por alelos de vários genes com efeitos aditivos.

Hoje sabemos que, embora esse modelo explique a variação contínua, ele deixa de considerar diversos dos componentes genéticos — como os efeitos de dominância, epistasia e ligação gênica, além do componente ambiental — que podem estar influenciando na determinação da variação contínua de uma característica. Esses temas serão abordados na próxima aula.

## A AMOSTRAGEM E A ANÁLISE DO FENÓTIPO

Nas aulas de Bioestatística você já teve a oportunidade de estudar o que é uma população e como descrever os parâmetros de posição e de dispersão de distribuições de frequências para suas características. Deve ter aprendido também que esses parâmetros, em geral, são estimados através de análises estatísticas de amostras da população. Esses conhecimentos serão fundamentais para que você possa compreender como são feitos os estudos sobre a herança de caracteres contínuos; por isso, esteja com a sua apostila de Bioestatística para acompanhar as aulas.

Então, vamos rever alguns pontos relacionados à amostragem e análise do fenótipo.

O primeiro passo para a análise da variação fenotípica é a **amostragem** de indivíduos da população. Para estudarmos uma população natural, devemos ter alguns cuidados básicos ao realizar uma coleta, como por exemplo:

- 1) Ter uma idéia do tamanho populacional, isto é, do número de indivíduos que formam a população. Quanto mais indivíduos forem amostrados, melhor será a estimativa do parâmetro que desejamos analisar na população. Contudo, de uma forma geral, as populações possuem um grande número de indivíduos e nossa capacidade de análise é limitada. Assim, chegar a um número ideal a ser amostrado é uma tarefa de bom senso que depende do tamanho da população, da variação do parâmetro a ser estimado e da nossa capacidade de processamento dos dados. Além disso, se os indivíduos a serem analisados precisarem ser retirados de seu ambiente, devemos cuidar para que isto não chegue a afetar o equilíbrio do tamanho populacional.

- 2) A amostragem precisa ser aleatória. Idealmente, um indivíduo da população deve ter a mesma chance de ser coletado do que qualquer outro indivíduo. Em uma amostragem tendenciosa onde, por exemplo, apenas indivíduos aparentados tenham sido capturados devido a um erro de estratégia durante a coleta, a variação fenotípica da população não estará corretamente representada nesta amostra e poderemos chegar, portanto, a conclusões equivocadas.

Depois que a amostragem foi realizada, chega a hora da **análise do fenótipo**. Como vimos anteriormente, os fenótipos dos caracteres quantitativos são na verdade medidas do fenótipo de cada indivíduo. Alguns cuidados também devem ser tomados para a obtenção de uma medida precisa do fenótipo individual:

- 1) Para avaliar se existe ou não variação fenotípica em um determinado caráter, devemos utilizar a escala de medida e o número de casas decimais adequados ao problema. Digamos que nós desejamos saber se existe ou não variação fenotípica no tamanho do corpo em uma população de percevejos. Se utilizarmos uma régua graduada em milímetros (mm) para medir o tamanho dos indivíduos, só seremos capazes de observar diferenças no tamanho dos indivíduos quando essas diferenças se aproximarem de 1 milímetro. Assim, diferenças mais sutis não poderão ser observadas nessa escala.
- 2) Ao medir o fenótipo, devemos ser muito precisos. Isso significa que devemos estar atentos para evitar erros de medida, buscando homogeneizar as condições onde essas medidas serão tomadas.

Agora que você já tem noções de como obter uma amostra e como medir o fenótipo individual, vamos passar para a análise da variação fenotípica da população.

### ESTIMATIVAS DA MÉDIA E DA VARIAÇÃO FENOTÍPICA

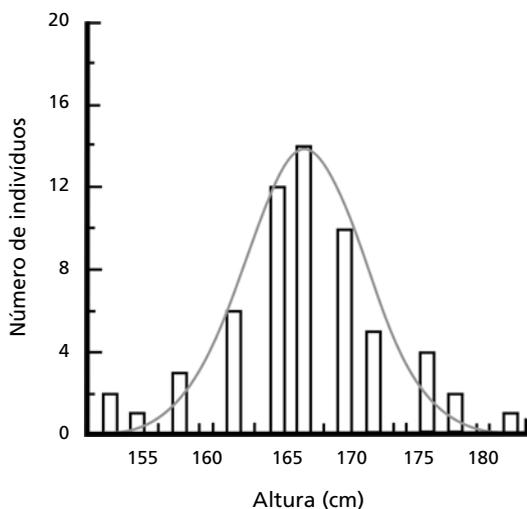
A análise da distribuição fenotípica de uma população pode nos fornecer informações importantes sobre o caráter quantitativo. Como, em geral, ao analisarmos uma população natural ou experimental utilizamos uma amostra dessa população, vamos rever como estimar através de amostras os parâmetros de uma população.

Como exemplo, vamos analisar a variação fenotípica encontrada em uma amostra de alunos de um curso de Ciências Biológicas. Considere que esse curso tem cerca de 400 alunos e que obtivemos uma amostra aleatória de 60 alunos. O caráter analisado é a altura dos alunos. Acompanhe o **Quadro 16.2**:

**Quadro 16.2:** Altura, em centímetros, de 60 alunos de um curso de Ciências Biológicas, onde  $n_i$  é o número do indivíduo analisado.

$n_i$	Altura										
1	153,5	11	172,6	21	158,2	31	162,4	41	170,2	51	165,2
2	165,2	12	176,1	22	167,7	32	165,2	42	167,7	52	167,7
3	170,2	13	167,7	23	178,9	33	153,5	43	165,2	53	170,2
4	167,7	14	155,9	24	165,2	34	167,7	44	162,4	54	162,4
5	172,6	15	165,2	25	176,1	35	176,1	45	170,2	55	167,7
6	158,2	16	167,7	26	170,2	36	165,2	46	178,9	56	172,6
7	170,2	17	170,2	27	162,4	37	170,2	47	165,2	57	165,2
8	165,2	18	167,7	28	165,2	38	172,6	48	167,7	58	170,2
9	167,7	19	182,1	29	167,7	39	167,7	49	176,1	59	172,6
10	162,4	20	170,2	30	162,4	40	158,2	50	165,2	60	167,7

Podemos representar a distribuição das alturas dos indivíduos da amostra através de um gráfico de frequências onde os indivíduos são distribuídos de acordo com sua altura (**Figura 16.5**). Note que mais de um indivíduo pode apresentar a mesma altura.



**Figura 16.5:** Representação gráfica da distribuição fenotípica de uma amostra de 60 alunos de Biologia através de um histograma. O número de indivíduos em cada classe fenotípica está indicado por cada barra, e através de uma distribuição de frequências, indicada pela curva ajustada aos valores fenotípicos.

O primeiro passo para a análise de uma distribuição fenotípica é a estimativa da média aritmética. A média de uma amostra ( $\bar{x}$ ) representa o centro da distribuição. Assim, quando pensamos na média de uma amostra devemos nos lembrar de que este valor representa um valor central ao redor do qual todos os valores fenotípicos dos indivíduos da amostra estão distribuídos. A média é calculada através da soma de todas as medidas ( $x_i$ ) da amostra dividida pelo número de indivíduos analisados ( $n$ ):

$$\bar{x} = (x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_n) / n$$

$$\bar{x} = \sum x_i / n$$

Em nosso exemplo, a média da altura dos alunos será:

$$\bar{x} = (153,5 + 165,2 + 170,2 + \dots + 167,7) / 60$$

$$\bar{x} = 10051,4 / 60$$

$$\bar{x} = 167,5$$

O segundo passo para a análise de uma distribuição fenotípica é a estimativa da variância ( $s^2$ ), que mede a dispersão dos fenótipos dos indivíduos em torno da média (Figura 16.6). A variância da amostra é calculada através da soma do quadrado dos desvios de cada fenótipo em relação à média ( $(x_i - \bar{x})^2$ ) dividida pelo número de indivíduos analisados ( $n$ ) -1:

$$s^2 = (x_1 - \bar{x})^2 + (x_2 - \bar{x})^2 + (x_3 - \bar{x})^2 + \dots + (x_n - \bar{x})^2 / n - 1$$

$$s^2 = \sum (x_i - \bar{x})^2 / n - 1$$

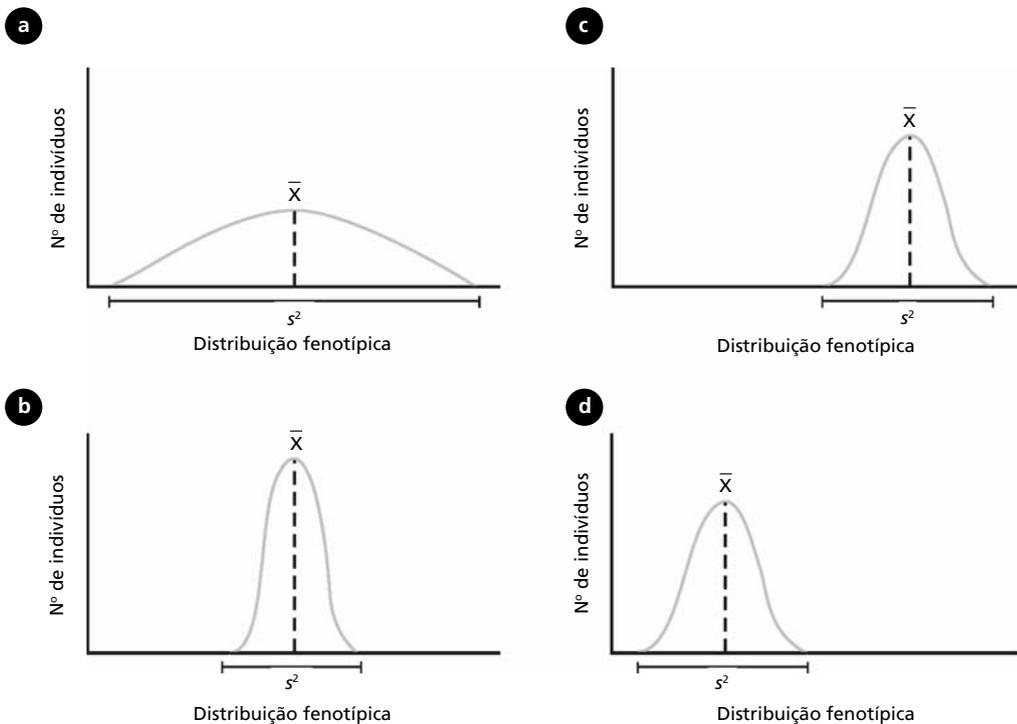
Em nosso exemplo, a variância da altura dos alunos, ou seja, a  $V_F$  da amostra será:

$$s^2 = (153,5 - 167,5)^2 + \dots + (167,2 - 167,5)^2 / 60 - 1$$

$$s^2 = 1977,9 / 59$$

$$s^2 = 33,5$$

Utilizando essas duas medidas estatísticas, podemos avaliar se existe diferença na variância fenotípica encontrada em amostras diferentes. Observando a Figura 16.6, podemos notar que amostras diferentes podem ter médias iguais e variâncias diferentes, ou médias diferentes e variâncias iguais.



**Figura 16.6:** Média ( $\bar{X}$ ) e variância ( $s^2$ ) das distribuições fenotípicas da altura dos indivíduos de quatro amostras diferentes com o mesmo número de indivíduos, sendo a amostra a) a mesma amostra do Quadro 16.2; a) e b) possuem a mesma média, mas as variâncias são diferentes, enquanto c) e d) possuem a mesma variância, mas as médias são diferentes.

Quando desejamos comparar duas ou mais amostras devemos comparar suas médias e variâncias. Basta que a média ou a variância entre duas amostras seja diferente para que rejeitemos a hipótese de que as duas amostras são provenientes da mesma população.

Contudo, dependendo do que estamos analisando, podemos ter mais ou menos interesse em uma ou outra medida.

Mas qual é o objetivo da comparação entre médias e variâncias de duas ou mais amostras nas análises genéticas de caracteres contínuos?

Na verdade, existem vários objetivos para esse tipo de comparação. Por exemplo, você pode querer comparar justamente a produção de leite em dois rebanhos diferentes, para saber em qual dos dois vale a pena investir mais trabalho e recursos. Em outro caso, você poderia comparar as médias do tamanho dos indivíduos em diferentes populações naturais de uma mesma espécie, para determinar se existe algum tipo de seleção natural, para um tamanho maior ou menor, em populações que vivem em ambientes distintos. Você poderia comparar, ainda, as médias do número de grãos de milho produzidos em plantações que empregam diferentes linhagens genéticas e métodos de cultivo e, assim, identificar se um método é mais eficiente do que o outro para determinada linhagem.

Será que você pode pensar em outros casos em que a comparação entre as estimativas de médias de populações seja útil ou interessante? Anote suas idéias para discutir com seus colegas e tutores.

Existe um teste estatístico específico para a comparação entre as médias de duas ou mais amostras: a análise de variância ou ANOVA. O teste de  $t$  também é muito utilizado quando se quer comparar a média entre duas amostras. Já a comparação entre variâncias é feita através do teste  $F$ . Os procedimentos para realizar esses testes estão descritos na aula de Bioestatística *Estimativas e testes de hipóteses*. Mas você também pode saber mais a respeito do uso de testes estatísticos: consulte nos livros de Genética Quantitativa ou Bioestatística listados nas referências. Faça uma revisão, pois utilizaremos as estimativas de média e variância e os testes para comparar essas estatísticas entre amostras.

## INFORMAÇÕES SOBRE A PRÓXIMA AULA

Veremos quais são os componentes que determinam a variação fenotípica e como podemos estimar a contribuição relativa dos fatores genéticos e ambientais. Veremos, também, como a variação genética é transmitida através das gerações e qual é a sua importância para a evolução das espécies.

### RESUMO

Muitas das características presentes em uma espécie apresentam distribuição contínua de fenótipos e são chamadas características ou traços quantitativos.

A herança de características quantitativas é considerada complexa, pois é influenciada pela segregação de alelos de vários genes e por variáveis ambientais. No que se refere ao componente genético, cada indivíduo da população pode possuir diferentes alelos para cada um dos genes envolvidos, que contribuem com uma pequena parcela na determinação do fenótipo da característica em questão. Através da análise de cruzamentos específicos, podemos obter uma estimativa do número de genes envolvidos no controle da característica, se poucos genes estiverem envolvidos.

Devido às peculiaridades da herança de caracteres quantitativos, a aplicação da análise genética mendeliana é extremamente difícil, razão pela qual utilizamos técnicas estatísticas de análise.

As estimativas das médias e variâncias de caracteres contínuos nas populações podem ser utilizadas para uma infinidade de comparações como, por exemplo, comparar a eficiência de métodos de produção diferentes; comparar se a ação da seleção, natural ou artificial, foi efetiva, isto é, se houve uma modificação na média do fenótipo entre duas ou mais populações; ou comparar se a diferença na constituição genética de duas amostras produz uma diferença na média fenotípica.

## EXERCÍCIOS

1. Para cada uma das características listadas a seguir, diga se você acha que se trata de uma característica discreta (não apresenta distribuição contínua) ou quantitativa (apresenta distribuição contínua), e por que você chegou a cada conclusão.

- a) Cor da pele em humanos;
- b) Cor das ervilhas estudadas por Mendel;
- c) Taxa de crescimento de canários;
- d) Comprimento do fio de lã em ovelhas;
- e) Lobo da orelha preso ou solto em humanos.

2. Se você tivesse duas linhagens puras de feijão que diferem quanto ao fenótipo de um caráter não influenciado por por variações ambientais, como você faria para determinar se esse caráter é controlado por mais de um gene?

3. Duas variedades de *Nicotiana longiflora* possuem os seguintes comprimentos médios da corola da flor: 28mm e 68mm. A média dos indivíduos híbridos F1 dessas duas linhagens apresentou comprimento intermediário (48 mm). Aproximadamente 0,5% dos indivíduos da F2 possuem comprimento médio de 28mm, enquanto outros 0,5% dos indivíduos da F2 possuem comprimento médio de 68mm.

- a) Qual é o mais provável número de pares de alelos envolvidos na determinação da variação do comprimento da corola?
- b) Qual é o número de classes fenotípicas esperadas na F2 do cruzamento proposto?
- c) Qual o aumento no tamanho da corola resultante da substituição de um alelo não contribuinte por um alelo contribuinte?
- d) Quais são os pressupostos do modelo utilizado para se obter essas estimativas?

4. O quadro abaixo apresenta as médias de altura e peso em uma amostra de pais e filhos adultos de uma população onde a geração dos filhos foi submetida a restrições alimentares durante os primeiros 2 anos de vida.

Caráter	Altura (cm)		Peso (kg)	
	Média dos filhos	Média dos pais	Média dos filhos	Média dos pais
1	164,0	172,5	50,0	75,0
2	153,0	156,0	49,0	59,0
3	160,0	167,5	56,0	68,5
4	185,0	172,0	81,0	69,0
5	178,0	171,0	71,0	83,5
6	167,0	166,5	60,0	56,5
7	163,0	165,0	60,0	64,0
8	168,0	166,5	59,0	66,5
9	169,0	161,0	62,0	64,0
10	168,0	167,0	60,0	60,5
11	165,0	172,0	60,0	83,0
12	151,0	165,0	57,0	67,5
13	155,0	171,0	50,0	72,5
14	164,0	174,0	65,0	87,5
15	152,0	156,0	49,0	55,5
16	177,0	172,5	65,0	60,0
17	175,0	162,0	85,0	65,0
18	168,0	163,0	63,0	71,0
19	164,0	165,5	43,0	70,0
20	181,0	170,0	74,0	64,5
<i>n</i>	20	20	20	20
Média				
Variância				

- a) Complete o quadro com as estimativas de média e variância da altura e do peso, para os filhos e pais, separadamente.
- b) Compare as estimativas de média e variância obtidas para as medidas de altura e peso entre pais e filhos através de testes estatísticos. Discuta os resultados.

Dica: você pode estimar as médias e variâncias utilizando uma calculadora ou através de um programa de computador. Há vários programas de Bioestatística disponíveis, mas, para estes cálculos mais elementares, você pode utilizar até mesmo o programa *Excel*. Esses programas permitem, também, que você faça as comparações entre amostras. Procure saber como, revendo os testes utilizados na disciplina de Matemática e Bioestatística, pois isso facilitará muito seu trabalho.

5. A tabela a seguir apresenta o peso em gramas dos pêssegos de duas linhagens (A e B) diferentes, antes e após cinco gerações de seleção para aumento no peso dos pêssegos. Analise os resultados e responda: 1. Antes da seleção havia diferença no fenótipo entre as duas populações? 2. Houve diferença significativa no peso das linhagens após a seleção? 3. As linhagens responderam de forma semelhante à seleção? 4. Proponha uma hipótese para explicar os resultados obtidos. Em caso de dúvidas, não deixe de discutir com o seu tutor.

Valores antes da seleção		Valores após a seleção	
A	B	A	B
15	15	17	20
15	15	16	20
14	15	16	19
13	15	15	18
12	13	15	17
12	13	14	16
12	13	14	16
12	13	14	16
12	10	13	15
11	10	13	15
10	10	12	14
10	10	12	14
10	10	11	13
10	9	10	13
10	9		12
10	9		12



# Introdução à Genética Quantitativa: os componentes da variação fenotípica

## AULA 17

### objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Compreender a importância da variação genética, da variação ambiental e da variação de interação na determinação da variação fenotípica encontrada nas populações.
- Identificar os componentes que determinam a variação genética.
- Reconhecer como a variação genética de caracteres contínuos é transmitida através das gerações e compreender sua importância para a evolução das espécies.

### Pré-requisitos

Compreender os fundamentos da teoria evolutiva e do mecanismo da seleção natural.

Possuir noções básicas de Estatística descritiva: amostragem, média e variância.

Possuir noções básicas de testes de hipótese: teste  $t$  e análise de regressão.

## INTRODUÇÃO



### RONALD FISHER (1890-1962)

Esse brilhante geneticista e estatístico inglês fez contribuições essenciais para o desenvolvimento dos fundamentos da Bioestatística e da teoria da Genética de Populações. Em seus 50 anos de carreira, Fisher desenvolveu testes estatísticos com ampla aplicação nos campos da Genética, Taxonomia, Ecologia e até em áreas não-biológicas. Por causa de graves problemas de visão, Fisher resolvia problemas matemáticos de cabeça, muitas vezes confundindo cientistas experientes por não apresentar os passos intermediários das soluções.

Na aula passada, vimos que o geneticista sueco Herman Nilsson-Ehle forneceu uma das primeiras evidências de que a variação fenotípica contínua poderia ser explicada pela segregação e distribuição independente dos alelos aditivos em mais de um gene.

Na mesma época, outro pesquisador também realizava importantes estudos com caracteres que apresentavam variação contínua. Você se lembra de Wilhelm Johannsen? Na Aula 6 vimos que esse biólogo dinamarquês criou os termos gene, genótipo e fenótipo, amplamente utilizados na Genética moderna. Foi esse cientista que, no começo do século XX, publicou as primeiras observações de que parte da variação observada em uma característica quantitativa pode ser determinada por fatores genéticos e ambientais.

No entanto, foram os estudos teóricos de **RONALD FISHER** que fortaleceram as evidências de que os genes que controlam os caracteres quantitativos possuem padrão de transmissão mendeliana. Fisher corroborou a idéia de que a segregação de alelos mendelianos em mais de um gene poderia explicar a herança observada nos caracteres quantitativos e que esses alelos geralmente apresentam pequenos efeitos aditivos, embora possam apresentar outros tipos de interação alélica, como dominância ou epistasia. Através de estudos matemáticos e estatísticos, ele criou modelos para estimar a importância relativa dos fatores genéticos e ambientais na determinação da distribuição fenotípica contínua observada em diversas populações.

## O TRABALHO DE JOHANNSEN

Estudando a espécie de feijão *Phaseolus vulgaris*, Johannsen observou que o peso e o tamanho dos grãos variavam consideravelmente quando as plantas cresciam e se intercruzavam livremente sob as condições ambientais normais do campo.

Tentando estabelecer linhagens puras, ele passou a selecionar e **endocruzar**, ou seja, cruzar somente entre si, as plantas que produziam apenas grãos maiores, fazendo o mesmo com aquelas que produziam os menores grãos.

Johannsen entendia que essas linhagens puras deveriam ser homozigóticas para a maioria de seus genes e esperava, portanto, que não houvesse variação fenotípica dentro de cada linhagem. Entretanto, após muitas gerações de endocruzamento, ele notou que ainda restava uma variação fenotípica considerável dentro de cada uma delas.

Ele então propôs que, como a **VARIAÇÃO GENÉTICA** ( $V_G$ ) dentro de cada linhagem deveria ser muito baixa ou até mesmo inexistente, devido ao número de gerações de endocruzamento realizadas, essa variação fenotípica residual poderia estar sendo determinada pela ação de fatores ambientais não controlados no experimento, como diferentes quantidades de nutrientes, água ou incidência de luz a que cada planta estaria sujeita.

Suponha que Johanssen tenha conseguido estabelecer as linhagens puras com grãos maiores e com grãos menores. Essas linhagens seriam então homozigóticas para todos os genes envolvidos no controle do peso do grão. Logo, podemos prever como seriam os indivíduos da geração F1 do cruzamento entre essas linhagens, mesmo sem saber quantos genes estão envolvidos. E quanto aos indivíduos da geração F2? Vamos por partes:

Para simplificar, vamos apresentar apenas dois dos genes envolvidos no controle desse caráter, sendo que todas as plantas da linhagem pura com o fenótipo grãos maiores possuem o genótipo  $A_1A_1B_1B_{1...}$ , enquanto todas as plantas da linhagem pura com o fenótipo grãos menores possuem o genótipo  $A_2A_2B_2B_{2...}$ . Além disso, podemos supor que cada alelo com subscrito 1 contribua de maneira aditiva com uma unidade de medida para o peso dos grãos, enquanto cada alelo com subscrito 2 não contribua nem para o aumento nem para a diminuição do peso dos grãos. Dessa forma, quanto mais alelos contribuintes estiverem presentes, ou seja, os alelos  $A_1$ ,  $B_1$  etc., mais pesados serão os grãos.

### VARIAÇÃO GENÉTICA

É a proporção da variação fenotípica determinada pelas diferenças genéticas entre os indivíduos da população.

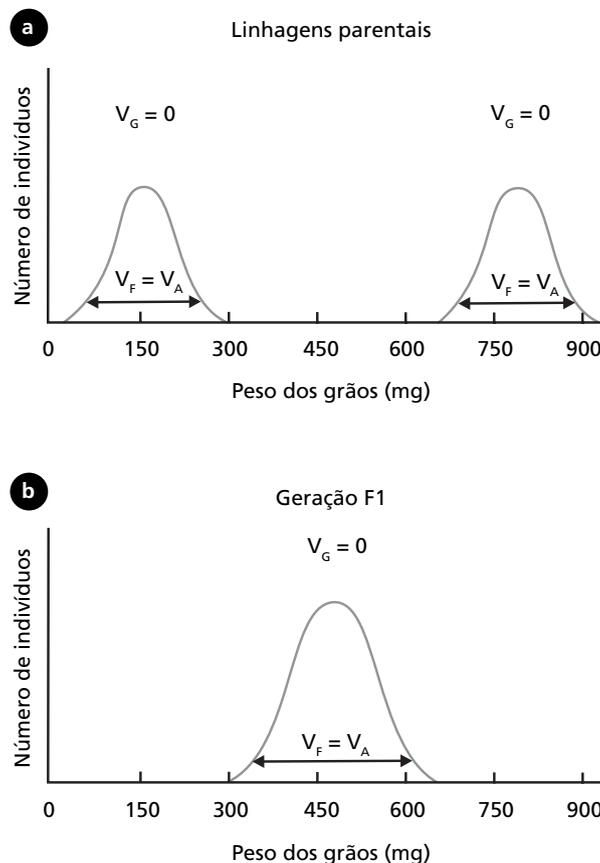
Tais diferenças são atribuídas aos efeitos dos alelos segregantes em um mesmo gene e aos efeitos das interações entre os alelos de genes diferentes na determinação do fenótipo dos indivíduos da população. Quando uma população ou linhagem possui apenas indivíduos com o mesmo genótipo para um dado caráter, como plantas produzidas por autofecundação, podemos afirmar que não existe variação genética ( $V_G = 0$ ), pois os efeitos dos alelos segregantes e das interações alélicas no fenótipo de cada indivíduo serão sempre os mesmos. Entretanto, a maioria das populações naturais possui uma variação genética considerável.

**VARIAÇÃO AMBIENTAL**

É a proporção da variação fenotípica causada pelos efeitos dos fatores ambientais na determinação do fenótipo dos indivíduos da população. Por exemplo, indivíduos com o mesmo genótipo podem apresentar fenótipos um pouco diferentes, aumentando a variação fenotípica da população, se forem submetidos a condições ambientais diferentes durante o seu desenvolvimento. Quando todos os indivíduos de uma população são criados sob condições ambientais idênticas, podemos afirmar que não existe variação ambiental ( $V_A = 0$ ). Contudo, esse controle total das condições ambientais é muito difícil de ser alcançado, mesmo em experimentos de laboratório.

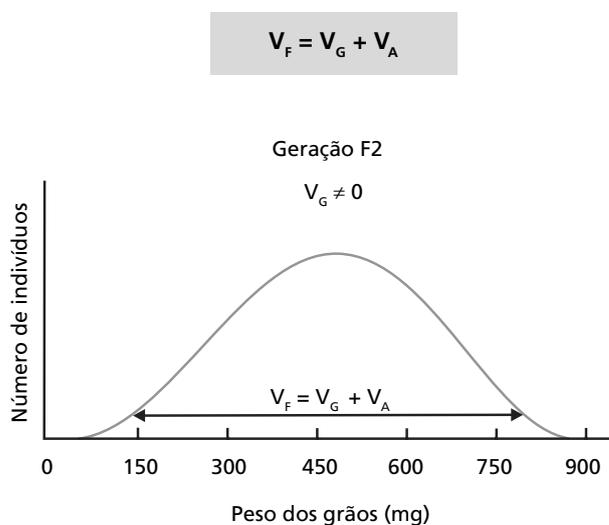
Partindo do pressuposto de que não existia **variação genética** ( $V_G = 0$ ) dentro de cada linhagem pura, já que todos os indivíduos possuem o mesmo genótipo homocigótico para o caráter em questão, Johanssen propôs que a **variação fenotípica** ( $V_F$ ) presente dentro de cada linhagem pura deveria estar sendo produzida pela influência de fatores ambientais não controlados, a **VARIAÇÃO AMBIENTAL** ( $V_A$ ). Podemos representar essa hipótese através da seguinte equação:  $V_F = V_A; V_G = 0$  (Figura 17.1.a).

Do cruzamento entre essas duas linhagens puras resultariam apenas plantas heterocigóticas para todos os genes envolvidos, com genótipo  $A_1A_2B_1B_2...$  e com fenótipo intermediário, por possuírem metade do número de alelos contribuintes. Como o genótipo de todos os indivíduos da F1 é o mesmo, também não há variação genética nessa geração ( $V_G = 0$ ), e toda variação fenotípica encontrada deve estar sendo causada pela ação da variação ambiental ( $V_F = V_A$ ). Assim, a variação fenotípica na F1 também poderia ser explicada pela equação  $V_F = V_A; V_G = 0$  (Figura 17.1.b).



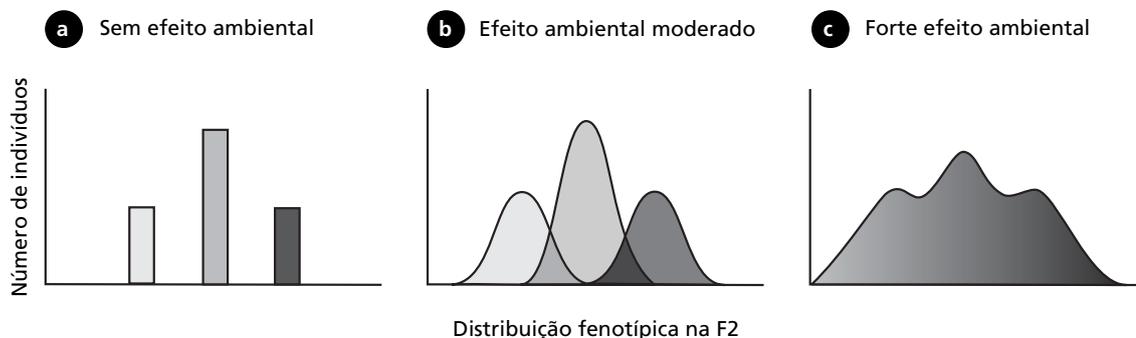
**Figura 17.1:** A variação fenotípica presente nos indivíduos de cada linhagem pura (a) e nos indivíduos heterocigóticos da F1 (b) é causada apenas pela ação da variação ambiental, uma vez que os indivíduos de cada linhagem são geneticamente uniformes ( $V_G = 0$ ) e a variação ambiental não foi controlada ( $V_A \neq 0$ ).

E quanto à geração F2? Nesse caso, existiria variação genética ( $V_G \neq 0$ ), uma vez que do cruzamento de indivíduos heterozigóticos, ou seja, com alelos segregantes para seus genes ( $A_1A_2B_1B_2 \dots \times A_1A_2B_1B_2 \dots$ ), esperamos encontrar  $3^n$  genótipos diferentes na prole. Nesse caso, portanto, a variação fenotípica encontrada na F2 é determinada não só pela variação ambiental, mas também pela variação genética dos indivíduos, já que fenótipos diferentes dependem do número de alelos contribuintes e da influência dos fatores ambientais durante o desenvolvimento dos indivíduos (Figura 17.2). Assim, podemos representar a variação fenotípica encontrada na F2 da seguinte maneira:



**Figura 17.2:** A variação fenotípica presente nos indivíduos da F2 é causada pela ação da variação genética e da variação ambiental, uma vez que os indivíduos dessa geração não são geneticamente uniformes ( $V_G \neq 0$ ) e a variação ambiental não foi controlada ( $V_A \neq 0$ ).

Na Aula 16 (confira a Figura 16.4) nós vimos que quanto maior é o número de genes envolvidos na determinação do fenótipo, maior é o número de classes fenotípicas e menores são as diferenças entre cada uma das classes, podendo chegar a uma distribuição contínua. Mas, na verdade, o número de genes necessários para que uma distribuição se torne contínua depende do quanto os fenótipos individuais são afetados pelos fatores ambientais. Observe a Figura 17.3. Podemos notar que mesmo um caráter monogênico, ou seja, um caráter controlado por um só gene, pode apresentar distribuição fenotípica contínua se houver uma forte influência da variação ambiental na determinação da variação fenotípica desse caráter.



**Figura 17.3:** Distribuição fenotípica de um caráter monogênico na F2 de um cruzamento entre linhagens puras: a) sem efeito ambiental; b) com efeito ambiental moderado; c) com forte efeito ambiental.

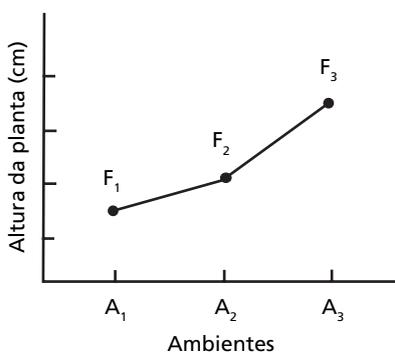
Resumindo, se considerarmos que o fenótipo (F) de cada indivíduo depende de seu genótipo (G) e do ambiente (A) onde se desenvolve ( $F = G + A$ ), podemos concluir que a variação fenotípica ( $V_F$ ) observada entre os indivíduos de uma população será o resultado da variação genética apresentada pelos indivíduos dessa população ( $V_G$ ) e da variação de ambientes ( $V_A$ ) a que cada genótipo é submetido,  $V_F = V_G + V_A$ .

### CLONES

A palavra clone (do grego *klon*, broto vegetal) é utilizada para denominar indivíduos geneticamente idênticos. Clones podem ser produzidos naturalmente através da reprodução assexuada, como no caso de organismos unicelulares e várias espécies de plantas, ou através do surgimento de gêmeos idênticos nos animais, que são originados por uma divisão extraordinária do zigoto. Artificialmente, clones são gerados através do plantio de mudas de uma única planta ou por técnicas de **clonagem**, atualmente utilizadas em mamíferos. Você já deve ter ouvido falar da ovelha Dolly, o primeiro indivíduo produzido através dessa técnica. Entretanto, tal técnica ainda provoca muitos questionamentos. Leia mais: Veiga, Lygia Pereira. *Clonagem: verdades e mitos*. São Paulo: Moderna, 2002.

### A NORMA DE REAÇÃO DO GENÓTIPO

Como vimos, um mesmo genótipo pode apresentar fenótipos diferentes, dependendo das condições ambientais onde os indivíduos são criados; essa flexibilidade dos genótipos é chamada **norma de reação do genótipo**. Para ficar bem claro, vamos ver mais um exemplo. Imagine que podemos obter **CLONES** de uma determinada planta com um determinado genótipo que chamaremos de genótipo 1 ( $G_1$ ). Esses clones  $G_1$  foram cultivados em três ambientes diferentes: ambiente 1 ( $A_1$ ), ambiente 2 ( $A_2$ ) e ambiente 3 ( $A_3$ ), e após seis meses de desenvolvimento foram medidas as alturas dessas plantas. Verificou-se que em cada ambiente foi obtido um fenótipo diferente:  $F_1$ ,  $F_2$  e  $F_3$ , respectivamente. O padrão de fenótipos resultantes da resposta do  $G_1$  às variações do ambiente reflete a norma de reação desse genótipo (**Figura 17.4**).



**Figura 17.4:** Norma de reação de um genótipo ( $G_1$ ) em três ambientes diferentes ( $A_1$ ,  $A_2$  e  $A_3$ ).

## A VARIAÇÃO GENÉTICA TAMBÉM SE DIVIDE EM COMPONENTES

A variação genética ( $V_G$ ) de uma população também pode ser subdividida em componentes, devido à ocorrência de diferentes relações entre os alelos de um mesmo gene e entre os alelos de genes diferentes.

Chamamos de **variação genética aditiva** ( $V_{GA}$ ) a variação genética que se deve aos efeitos aditivos dos alelos, como no caso daqueles que acrescentam uma unidade de pigmento ao grão de trigo no experimento de Nilsson-Ehle.

Outros componentes da variação genética são a **variação genética de dominância** ( $V_{GD}$ ) e a **variação genética de interação** ( $V_{GI}$ ). Como vimos, os efeitos de dominância entre alelos de um mesmo gene e de interação entre alelos de genes diferentes não foram considerados no modelo genético aditivo de Nilsson-Ehle, mas podem existir e influenciar a determinação do fenótipo de uma característica.

Podemos dizer, então, que a variação genética de uma característica em uma população é composta pela soma das variações genéticas devido aos efeitos aditivos, de dominância e de interação dos alelos:  $V_G = V_{GA} + V_{GD} + V_{GI}$ .

Contudo, apenas os efeitos aditivos dos alelos são transmitidos à próxima geração, já que são próprios de cada alelo e, portanto, não dependem da sua relação com o outro alelo do mesmo gene ou com alelos de genes diferentes.

## A CONTRIBUIÇÃO DA INTERAÇÃO ENTRE GENÓTIPOS E AMBIENTES NA VARIAÇÃO FENOTÍPICA

Atualmente sabemos que a variação fenotípica ( $V_F$ ) encontrada nas populações naturais pode ser dividida em componentes atribuídos à variação genética ( $V_G$ ) e variação ambiental ( $V_A$ ), e às interações entre esses dois componentes, denominadas **variação de interação** ( $V_I$ ).

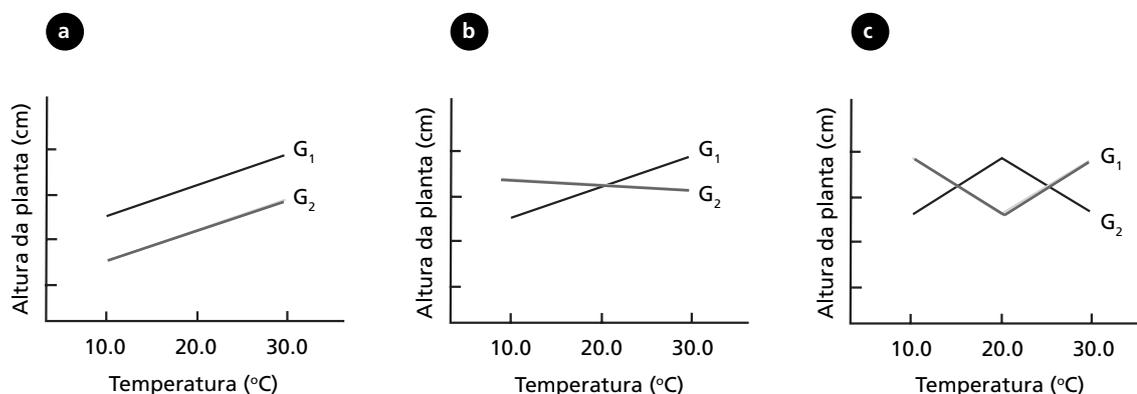
$$V_F = V_G + V_A + V_I$$

A variação de interação é a proporção da variação fenotípica determinada pelos efeitos das interações entre os diferentes genótipos da população e as diferentes condições ambientais a que essa população é submetida.

Mas qual a diferença entre o efeito ambiental e o efeito da interação entre genótipo e ambiente?

O efeito ambiental refere-se à norma de reação dos genótipos, ou seja, ao fato de um mesmo genótipo poder apresentar diferentes fenótipos dependendo das condições ambientais onde os indivíduos são criados, como vimos na **Figura 17.4**. Por outro lado, dizemos que existe interação genótipo-ambiente quando o fenótipo de indivíduos com genótipos diferentes para um dado caráter respondem de maneira diferente a variações nas condições ambientais. Note que, quando dois genótipos apresentam normas de reação paralelas, existe um efeito do ambiente sobre o genótipo, embora não exista interação entre genótipo e ambiente. Ficou confuso? Então, vamos com calma.

Acompanhe a **Figura 17.5**:



**Figura 17.5:** Comparação entre normas de reação de dois genótipos ( $G_1$  e  $G_2$ ), com relação ao fenótipo altura das plantas, em ambientes (temperaturas) diferentes. a) Não há interação genótipo-ambiente: normas de reação de  $G_1$  e  $G_2$  são paralelas; b) e c) Exemplos de interação genótipo-ambiente: normas de reação de  $G_1$  e  $G_2$  se cruzam.

Na **Figura 17.5.a**, os dois genótipos ( $G_1$  e  $G_2$ ) apresentam normas de reação paralelas. Assim, eles respondem da mesma maneira às variações de temperatura, ou seja, em ambos os casos a altura da planta aumenta quando a temperatura se eleva. Portanto, dizemos que não existe interação genótipo-ambiente.

Por outro lado, podemos dizer que existe interação genótipo-ambiente quando analisamos a **Figura 17.5.b**, já que para o primeiro genótipo ( $G_1$ ) a altura da planta torna-se maior quando a temperatura aumenta, enquanto para o segundo genótipo ( $G_2$ ) a altura da planta diminui quando a temperatura se eleva. Uma interação semelhante acontece na **Figura 17.5.c** entre as duas primeiras temperaturas, mas uma interação no sentido contrário ocorre entre a segunda e a terceira temperaturas.

Podemos concluir que  $V_I$  representa a soma de todos os efeitos de interação, positivos ou negativos, entre os diferentes genótipos de uma população e os diferentes ambientes aos quais os indivíduos dessa população são submetidos.

Apesar de reconhecermos que a variação fenotípica ( $V_F$ ) de uma característica em uma população é o resultado da ação de vários componentes genéticos ( $V_{GA}$ ,  $V_{GD}$ ,  $V_{GI}$ ), ambientais ( $V_A$ ) e das interações entre os genótipos e os ambientes ( $V_I$ ), identificar a contribuição de cada um desses componentes não é uma tarefa fácil.

Por outro lado, embora os modelos que procuram explicar a herança dos caracteres quantitativos indiquem que há vários genes envolvidos nessa determinação, não somos capazes de identificar a segregação dos alelos desses genes, e as análises mendelianas são impossíveis nesses casos. Toda informação de que dispomos é a variação fenotípica que observamos, pois ainda não existem métodos eficientes que permitam identificar os genes envolvidos na determinação das características quantitativas. Então, como estudar a herança dessas características? O uso da Matemática e da Estatística provou ser bastante eficiente para a análise da variação observada para caracteres quantitativos, e tem sido essencial para a maioria dos avanços no campo da Genética Quantitativa moderna.

Vamos ver a seguir como são feitos os estudos sobre a herança dos traços quantitativos através da descrição da variação fenotípica nas populações e através da comparação fenotípica entre indivíduos aparentados.

### **EM BUSCA DOS GENES QUE CONTROLAM UMA CARACTERÍSTICA QUANTITATIVA: A ANÁLISE DOS LOCOS DE CARACTERES QUANTITATIVOS (QTL)**

Até bem pouco tempo, a única forma de estudar essas características era através da determinação da contribuição de cada um dos fatores (genéticos e ambientais) para a variação da característica. Atualmente, com os avanços no campo da Biologia Molecular, estamos iniciando uma nova era. Combinando o uso de marcadores moleculares espalhados pelo genoma com uma análise fenotípica de linhagens homocigóticas para diferentes alelos segregantes, muitos estudos puderam identificar regiões cromossômicas nas quais os genes responsáveis pela variação quantitativa têm grande probabilidade de estar localizados. O objetivo desse tipo de análise é limitar a procura por genes que controlem o caráter em questão a regiões cromossômicas pequenas, chamadas de locos de caracteres quantitativos (QTL), evitando que a busca se estenda a todo o genoma.

### **HERDABILIDADE**

Existe um grande interesse em determinar se um caráter quantitativo é **herdável**, isto é, se pode ser transmitido para a próxima geração.

No caso de caracteres que possuem interesse econômico na produção de alimentos (como tamanho do fruto ou tempo de crescimento da planta) ou na criação de animais (como a produção de leite ou peso do animal), a base genética e a influência de fatores ambientais são exaustivamente estudados para que o melhoramento de caracteres possa ser realizado. Por muitos anos o homem realizou a seleção artificial de plantas e animais, de forma semelhante à seleção natural. Contudo, a seleção natural ou artificial de fenótipos só é eficiente se as diferenças fenotípicas observadas entre os indivíduos forem, essencialmente, determinadas por diferenças genéticas que sejam transmitidas às próximas gerações.

Por isso, o estudo do grau de **herdabilidade** de caracteres é fundamental para que possamos compreender como os processos evolutivos atuam para formar espécies novas e, talvez um dia, desvendar como surgiram as espécies que conhecemos.

Mas, como você já sabe, ainda não existem métodos eficientes que nos permitam identificar os genes envolvidos no controle de caracteres quantitativos. Para resolver esse problema, utilizamos análises estatísticas para estimar, a partir da variação fenotípica, a herdabilidade de um caráter.

**As estimativas de herdabilidade revelam que proporção da variação fenotípica de um caráter é determinada por sua variação genética, que pode, então, ser transmitida à próxima geração.**

Existem duas medidas de herdabilidade bastante utilizadas: a **herdabilidade sentido amplo** ( $H^2$ ) e a **herdabilidade sentido restrito** ( $h^2$ ).

Ambas as estimativas apresentam limitações no que se refere à sua aplicação. Os valores de  $h^2$  e  $H^2$  estimados para uma população criada em um determinado ambiente, não podem ser extrapolados para outras gerações da mesma população nem para outras populações da mesma espécie, pelas seguintes razões:

- 1) a variação genética de uma população é exclusiva, já que cada população possui um conjunto próprio de genótipos;
- 2) a variação ambiental a que uma população é submetida é exclusiva, já que cada ambiente tem suas particularidades.

Como as estimativas de  $h^2$  e  $H^2$  dependem da magnitude das variações genética e ambiental, variações nesses parâmetros resultarão em diferentes valores de  $h^2$  e  $H^2$ .

## Herdabilidade sentido amplo ( $H^2$ )

A herdabilidade sentido amplo ( $H^2$ ), também chamada grau de determinação genética, estima a contribuição da variação genética total para a determinação da variação fenotípica de uma população. Em outras palavras,  $H^2$  estima a proporção da variação fenotípica que é determinada pelos efeitos aditivos dos alelos individuais, pelas relações de dominância entre os alelos de um mesmo gene e pelas interações entre os alelos de genes diferentes, através da seguinte razão:  $H^2 = V_G / V_F$ .

O valor de  $H^2$  pode variar entre 0 e 1:

- 1) quando a  $H^2$  de uma população é 0, dizemos que a variação genética não contribui para a determinação da variação fenotípica da população. Por exemplo, no experimento de Johanssen com as linhagens de feijões geneticamente uniformes ( $V_G = 0$ ), as estimativas de herdabilidade do caráter peso dos grãos para cada uma das linhagens parentais e para geração F1 serão iguais a 0; para cada estimativa,  $H^2 = (0 / V_F) = 0$ . Dessa forma, toda variação fenotípica encontrada em cada linhagem parental e na geração F1 está sendo causada pela variação ambiental.
- 2) quando a  $H^2$  de uma população é 1, dizemos que toda a variação fenotípica presente na população é determinada pela variação genética total. Por exemplo, em um experimento onde a variação ambiental seja controlada ( $V_A = 0$ ), toda variação encontrada será devida à variação genética total desses indivíduos ( $V_F = V_G$ ); como  $V_F = V_G$ ,  $H^2 = V_G / V_F = 1$  e não existe contribuição ambiental ou de interação genótipo-ambiente na formação da variação fenotípica desses indivíduos.
- 3) quando a  $H^2$  de uma população está entre 0 e 1, dizemos que quanto maior o valor de herdabilidade maior será a proporção da variação fenotípica causada pela variação genética total. Por exemplo, uma população com  $V_F = 7,2$  e  $V_G = 5,9$  possui uma  $H^2 = 0,82 = 82\%$  ( $= 5,9 / 7,2$ ). Podemos concluir, portanto, que 82% da variação fenotípica dessa população é causada pela influência da variação genética total. Os 18% restantes da variação fenotípica são, então, determinados pela variação ambiental e pela variação de interação; entretanto, não podemos determinar qual é a contribuição de cada um desses componentes.

## Herdabilidade sentido restrito ( $h^2$ )

Pergunta-se: e se pudéssemos obter uma estimativa de herdabilidade que considere apenas os efeitos da variação genética aditiva na determinação da variação fenotípica de uma população, ou seja, os efeitos atribuídos aos alelos aditivos que são transmitidos à prole?

Esse é o conceito da herdabilidade senso restrito ( $h^2$ ), também chamada de coeficiente de herdabilidade. Ela estima o quanto da variação fenotípica é determinada pela variação genética aditiva, através da razão:  $h^2 = V_{GA} / V_F$ . Da mesma maneira que a herdabilidade senso amplo, essa estimativa também varia entre 0 e 1.

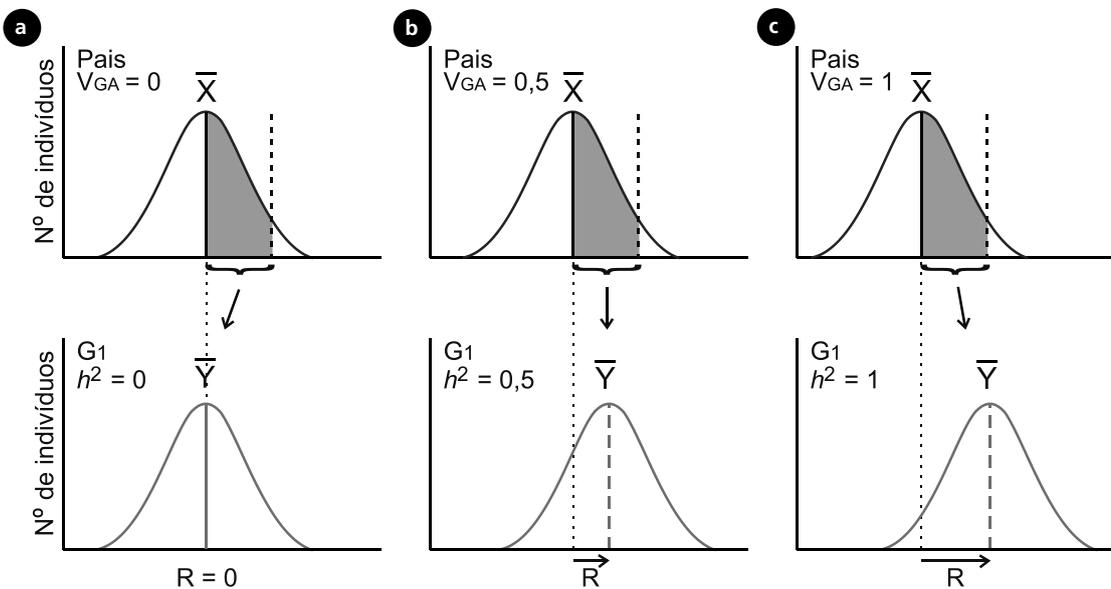
Uma propriedade interessante das estimativas de  $h^2$  é a previsão de fenótipos. Conhecendo o coeficiente de herdabilidade de um caráter, podemos prever os fenótipos da prole a partir dos fenótipos de seus pais, ou seja, podemos prever de que maneira os caracteres quantitativos responderão à seleção, seja ela natural ou artificial. Traços que possuem valores altos de  $h^2$  respondem bem à seleção, pois grande parte de sua variação fenotípica é resultado de sua variação genética aditiva, que será transmitida à prole.

Em outras palavras, a variação no fenótipo dos indivíduos é resultado de eles possuírem diferentes alelos com diferentes efeitos aditivos. Isso indica que, ao selecionar um tipo de fenótipo, os alelos considerados favoráveis passarão para a próxima geração e produzirão fenótipos semelhantes aos de seus pais. O **Quadro 17.1** apresenta estimativas de herdabilidade senso restrito ( $h^2$ ) obtidas para algumas características em diferentes espécies.

**Quadro 17.1:** Valores representativos de herdabilidade ( $h^2$ ) para diferentes caracteres em diferentes organismos. Esses valores revelam a presença de variação genética aditiva, condicionando a variação fenotípica em cada caráter; entretanto, não podem ser utilizados como estimativas de  $h^2$  em outras populações.

	Caráter	$h^2$		Caráter	$h^2$
Humanos	Altura	0,65	Aves	Fertilidade	0,05
	Nível de imunoglobulina no plasma	0,45		Produção de ovos em confinamento	0,10
Bovinos	Produção de leite	0,25	Milho	Comprimento do grão	0,55
	Peso ao desmame	0,05		Diâmetro do grão	0,14
	Peso final	0,40			
Equínos	Velocidade de corrida	0,6	Drosófilas	Peso do ovo	0,55
	Velocidade de trote	0,40		Tamanho do corpo	0,40
Peixes (salmão)	Comprimento corporal	0,10		Produção de ovos	0,20
	Sobrevivência	0,05		Forma da asa	0,45

A seguir, vamos acompanhar como três caracteres – com a mesma média inicial, no entanto com valores de  $h^2$  diferentes – respondem à seleção (Figura 17.6). Considere que, para todos os casos, a variação de interação não exerce influência na determinação dos fenótipos dos indivíduos ( $V_I = 0$ ).



**Figura 17.6:** Resposta à seleção ( $R$ ) para caracteres com diferentes herdabilidades ( $h^2$ ). a) Caráter sem determinação genética; b) caráter com 50% de determinação genética aditiva; c) caráter com 100% de determinação genética aditiva (sem influência ambiental). Nos gráficos superiores, as regiões sombreadas indicam os valores fenotípicos dos indivíduos que foram selecionados para serem os parentais da próxima geração (geração G1), sendo a média destes indivíduos selecionados denominada  $\bar{X}_s$ . A diferença entre  $\bar{X}_s$  e  $\bar{X}$  nos dá o valor do coeficiente de seleção diferencial ( $S$ ), ou seja, da intensidade da seleção aplicada à população experimental.

Para cada caso (**Figura 17.6.a, b e c**), indivíduos com fenótipos acima da média da população parental foram selecionados e cruzados entre si. Acompanhando a **Figura 17.6**, você poderá analisar se houve modificação na média fenotípica da geração G1 ( $\bar{Y}$ ) em relação à média da população parental ( $\bar{X}$ ) para cada caráter, isto é, se houve resposta à seleção (R).

Quando analisamos o caráter que não possui variação genética (**Figura 17.6.a**), a média fenotípica encontrada para os indivíduos da G1 é a mesma da população parental ( $\bar{Y} = \bar{X}$ ). Portanto, não houve resposta à seleção ( $R = 0$ ). Como  $h^2 = 0$ , isto é, apenas o ambiente determina a variação no fenótipo dos indivíduos, se não houver modificações nas condições ambientais, não haverá mudanças no fenótipo dos indivíduos da G1 em relação ao fenótipo dos indivíduos parentais.



O conceito de herdabilidade está relacionado à variação do caráter devido a fatores genéticos. Herdabilidade igual a zero não quer dizer que não existam genes condicionando o caráter. Na verdade, esse valor de herdabilidade representa uma ausência de variação genética aditiva, ou seja, os indivíduos analisados possuem o mesmo genótipo ou genótipos diferentes que causam o mesmo fenótipo e que, portanto, a variação genética não contribui significativamente para a determinação da variação fenotípica encontrada entre indivíduos e toda a variação observada é resultante de variações do ambiente.

Para o caráter com  $h^2 = 50\%$ , ou seja, tanto o ambiente quanto os efeitos aditivos dos alelos em cada gene condicionam a variação no fenótipo dos indivíduos (**Figura 17.6.b**), observamos que a média dos indivíduos da G1 se assemelha à média dos progenitores selecionados. Assim, podemos identificar uma resposta à seleção (R) na qual os indivíduos da G1 apresentam média fenotípica maior do que a média da população parental ( $\bar{Y} > \bar{X}$ ).

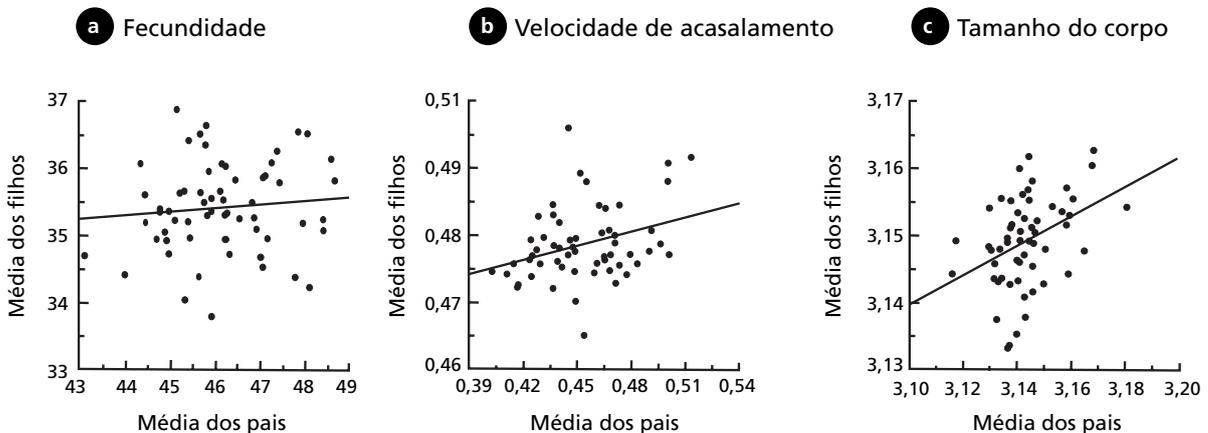
Por sua vez, quando analisamos o caráter que é determinado apenas pela variação genética aditiva ( $h^2 = 100\%$ ), observamos uma diferença maior entre a média dos indivíduos da G1 e a média da população parental (**Figura 17.6.c**). Essa resposta mais intensa à seleção se deve ao fato de que toda variação fenotípica presente nessa população é determinada pela variação genética aditiva. Assim, quando selecionamos indivíduos com genótipos “maiores”, isto é, com um número maior de alelos contribuintes, a prole do cruzamento entre esses indivíduos também será genética e fenotipicamente maior.

## COMO SÃO OBTIDAS AS ESTIMATIVAS DE $h^2$ ?

Existem vários métodos de estimar  $h^2$  em uma população, mas todos se baseiam na análise da semelhança entre indivíduos aparentados. Se genes estão envolvidos, então (em média) os parentes biológicos devem se assemelhar uns aos outros mais que os indivíduos não aparentados. Essa semelhança seria vista como uma correlação positiva entre genitores e prole ou entre irmãos. Por exemplo, se a altura na espécie humana tiver um forte componente genético, espera-se que genitores maiores que a média da população tenham uma prole também maior que essa média.

Assim, a herdabilidade de uma característica pode ser estimada através do coeficiente de regressão linear ( $b$ ) obtido entre a média da prole e a média dos pais ( $b^2 = b$ ). Lembre-se das aulas de Bioestatística; você viu que o coeficiente de regressão linear estima a inclinação da reta que melhor se ajusta aos pontos da regressão. Isso ficará bem claro ao analisarmos as regressões entre a média dos filhos e a média dos pais para três características diferentes, numa amostra de uma população de *Drosophila melanogaster*.

Observe a **Figura 17.7**. Em cada gráfico, os pontos representam a regressão entre a média dos pais e a média de seus filhos.



**Figura 17.7:** Regressão da média dos filhos na média de seus pais em uma amostra de *Drosophila melanogaster*. a) Regressão não-significativa ( $b \approx 0$ ) para o caráter fecundidade; b) regressão significativa ( $b \neq 0$ ) para o caráter velocidade de acasalamento; c) regressão significativa ( $b \neq 0$ ) para o caráter tamanho do corpo.

Para o caráter fecundidade (**Figura 17.7.a**), a regressão entre pais e filhos não é significativa. Isso quer dizer que o coeficiente de regressão não pode ser considerado diferente de zero ( $b = 0,094 \pm 0,144$ ). Portanto, a herdabilidade desse caráter também não é significativa ( $h^2 = b$ ), para esta amostra e as condições ambientais específicas. Nesse caso, então, dizemos que grande parte da variação observada na fecundidade dessa população é devida à variação ambiental e que não fomos capazes de detectar a influência dos fatores genéticos aditivos para a característica nessa população.

No entanto, para o caráter velocidade de acasalamento (**Figura 17.7.b**), podemos observar que a herdabilidade é significativa ( $h^2 = b = 0,237 \pm 0,088$ ), isto é, o coeficiente de regressão é significativamente diferente de zero ( $b \neq 0$ ). Dessa forma, podemos dizer que, cerca de 23% da variação fenotípica encontrada nesse caráter se deve à variação genética aditiva dos indivíduos. Podemos dizer também que o caráter velocidade de acasalamento é capaz de responder à seleção devido à presença de variação genética aditiva nessa amostra.

Quanto ao caráter tamanho do corpo (**Figura 17.7.c**), medido através do comprimento do tórax, o coeficiente de regressão é significativo e, portanto, existe variação genética aditiva condicionando a variação fenotípica encontrada nessa amostra. Além disso, esse caráter tem um potencial de resposta à seleção maior do que os outros dois caracteres analisados, uma vez que apresenta um valor de herdabilidade maior ( $h^2 = b = 0,440 \pm 0,138$ ).

Uma outra maneira, relativamente mais simples, de estimar a herdabilidade de um caráter quantitativo é através de experimentos de seleção artificial. Como você viu anteriormente (volte à **Figura 17.6**), quando conhecemos a herdabilidade de um caráter ( $h^2$ ) e a intensidade da seleção aplicada à população experimental (**S**), podemos prever a resposta deste caráter à seleção (**R**). Se pensarmos de maneira contrária, quando conhecemos o **R** e o **S** podemos facilmente estimar a  $h^2$  do caráter; através da seguinte equação:  $h^2 = R / S$ . A intensidade da seleção artificial é estimada pelo coeficiente de seleção diferencial (**S**), ou seja, pela diferença entre a média fenotípica dos pais selecionados ( $\bar{X}_s$ ) e a média fenotípica da população a partir da qual estes pais foram selecionados ( $\bar{X}$ );  $S = \bar{X}_s - \bar{X}$ . Por sua vez, o coeficiente de resposta à seleção (**R**) é definido pela diferença entre a média fenotípica da geração G1 ( $\bar{Y}$ ) e a média fenotípica da geração parental antes da seleção ( $\bar{X}$ );  $R = \bar{Y} - \bar{X}$ .

### DOENÇAS MULTIFATORIAIS

São caracteres quantitativos que causam um malefício ao indivíduo, podendo se expressar durante toda a vida ou a partir de uma certa idade. Esses caracteres são também chamados caracteres multifatoriais, pois o que leva o indivíduo a apresentar a doença é uma combinação entre sua predisposição genética (genótipo favorável ao desenvolvimento da doença) e fatores ambientais, como hábitos alimentares inadequados, vida sedentária, exposição a produtos tóxicos, entre outros. A análise de doenças multifatoriais representa, portanto, um grande desafio para a Genética Humana. São exemplos de doenças multifatoriais alguns tipos de doenças cardiovasculares, obesidade, diabetes, câncer, esquizofrenia.

Agora imagine que um caráter que condiciona uma **DOENÇA MULTIFATORIAL** humana apresenta uma estimativa de herdabilidade de 0,65 (65%) em uma determinada população. O que esse valor representa? Poderíamos dizer que a chance de um indivíduo dessa população herdar alelos que condicionam a doença é bastante significativa, já que 65% da variação fenotípica nesse caráter se devem à variação genética aditiva, que pode ser transmitida à prole. Entretanto, não podemos afirmar que esse indivíduo apresentará a doença, uma vez que doenças multifatoriais dependem também de fatores não-genéticos para que sejam desenvolvidas.

## RESUMO

A distribuição contínua dos fenótipos individuais nas populações naturais reflete a complexidade na determinação do fenótipo de características quantitativas. O fenótipo de um indivíduo é resultado da ação dos alelos de vários genes e do ambiente onde o indivíduo se desenvolve.

Além do fato de que cada indivíduo da população pode possuir diferentes alelos para cada um dos genes envolvidos, é praticamente impossível que os indivíduos se desenvolvam em ambientes idênticos. Ao analisarmos o conjunto de indivíduos de uma população, observamos que existe variação nos seus fenótipos.

Assim, essa variação fenotípica ( $V_p$ ) resulta, principalmente, da variação genética ( $V_G$ ), da variação ambiental ( $V_A$ ) e da variação nas interações entre os genótipos e ambientes ( $V_I$ ). Por sua vez, as variações de interação resultam do fato de genótipos diferentes poderem apresentar normas de reação não-paralelas, isto é, responderem de forma diferente às variações ambientais.

A variação genética pode ainda ser subdividida nas variações genéticas aditivas ( $V_{GA}$ ), nas variações genéticas de dominância ( $V_{GD}$ ) e nas variações devidas às interações entre alelos de genes diferentes ( $V_{GI}$ ).

Existe um grande interesse em determinar se um caráter quantitativo é herdável, isto é, se pode ser transmitido para a próxima geração. A herdabilidade de um caráter constitui uma de suas propriedades mais importantes. Ela expressa a proporção de sua variabilidade fenotípica, que é determinada por sua variação genética.

Duas estimativas de herdabilidade são utilizadas com esse intuito, a herdabilidade sentido amplo ( $H^2 = V_G / V_p$ ) e a herdabilidade sentido restrito ( $h^2 = V_{GA} / V_p$ ). Através da herdabilidade sentido restrito podemos determinar de que maneira os caracteres quantitativos respondem à seleção, seja ela natural ou artificial, uma vez que essa estimativa representa a proporção da variação fenotípica de um caráter que é condicionada pelos efeitos aditivos dos alelos que são transmitidos à próxima geração.

## INFORMAÇÕES SOBRE A PRÓXIMA AULA

Na próxima aula iniciaremos nossos estudos Citogenéticos. Vamos explorar as características dos cromossomos e as causas de suas variações em número e estrutura dentro e entre espécies.

## EXERCÍCIOS

1) Continue desenvolvendo o seu glossário com os conceitos apresentados nesta aula.

2) O que significa dizer que dois genótipos distintos possuem normas de reação significativamente diferentes?

3) Duas linhagens puras de tabaco, com diferença significativa no número de folhas por planta, foram cruzadas. Abaixo está a lista do número de folhas por planta na F1 e na F2 desse cruzamento:

F1 = 16, 14, 15, 15, 13, 15, 16, 18, 13, 16.

F2 = 19, 20, 16, 17, 14, 16, 21, 15, 19, 17.

Considerando que os efeitos da variação de interação ( $V_i$ ) são desprezíveis, calcule:

a) a média e a variância para o número de folhas por planta em cada geração (lembre-se de que você pode utilizar programas com planilhas de cálculo para calcular tais valores);

b) o valor da variação ambiental ( $V_A$ ) para este caráter;

c) o valor da variação genética ( $V_G$ ) na geração F2, dado que a variação ambiental não modificou entre as gerações;

d) a herdabilidade sentido amplo ( $H^2$ ) na F1 e na F2. Discuta o significado dos valores.

A partir das estimativas de  $V_A$ ,  $V_G$  e  $H^2$  obtidas acima, responda:

e) Se você estivesse interessado em aumentar o número de folhas por plantas na próxima geração, o que você faria?

f) Qual é o pressuposto para que você chegue a este objetivo?

g) O valor de  $H^2$  poderia ajudar você a prever a intensidade de resposta à seleção desse caráter? Por quê?

4) O comprimento (em milímetros) medido de duas regiões da perna, tíbia e tarso, em uma amostra de anfíbio e as variâncias observadas estão listadas na tabela a seguir:

Variância	Comprimento da tíbia	Comprimento do tarso
Ambiental ( $V_A$ )	13,7	11,2
Interação ( $V_i$ )	3,5	1,3
Genética aditiva ( $V_{GA}$ )	4,2	19,8
Genética de dominância ( $V_{GD}$ )	21,0	6,1
Genética de interação ( $V_{GI}$ )	0,2	1,3

Para cada caráter, responda:

a) Qual é o valor da variação fenotípica ( $V_P$ )?

b) Qual é o valor da herdabilidade sentido amplo ( $H^2$ )?

c) Qual é o valor da herdabilidade sentido restrito ( $h^2$ )?

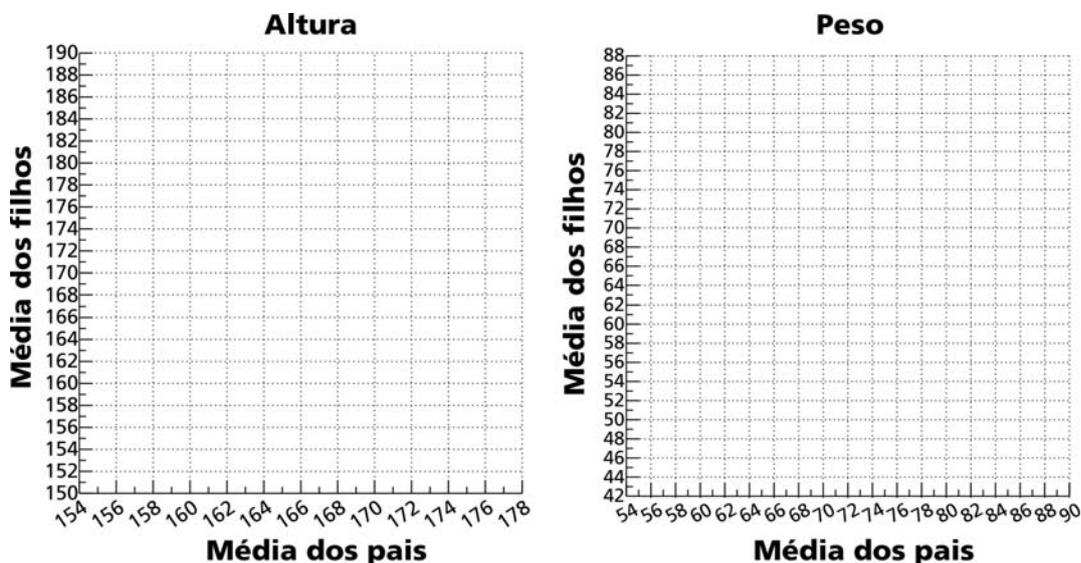
d) Qual dos dois caracteres responderia mais rápido à seleção?

e) Porque o valor de  $H^2$  é sempre maior do que o valor de  $h^2$ ?

5) Explique por que os valores de herdabilidade são válidos apenas para a população e o ambiente onde foram estimados.

6) Agora vamos estimar a herdabilidade senso restrito para altura e peso na amostra, apresentada no exercício 5 da Aula 16, utilizando o coeficiente de regressão ( $b$ ) entre a média dos pais e a média dos filhos. Acompanhe:

a) Primeiro, faça os gráficos relacionados a essas medidas para cada caráter, como na Figura 17.7.



b) O valor de  $b$  é dado pela fórmula  $b_{xy} = COV_{xy} / V_x$ , onde  $COV_{xy}$  é a covariância entre pais e filhos e  $V_x$  é a variância dos pais. Você já calculou os valores de  $V_x$  para cada caráter no exercício 5 da Aula 16. Então, vamos conferir: para a altura,  $V_x = 27,879$ ; e para o peso,  $V_x = 77,581$ . Agora, dado que  $COV_{xy} = 22,968$  para a altura e  $COV_{xy} = 11,139$  para o peso, calcule  $h^2$  para cada caráter, visto que  $h^2 = b$ .

Note que, a rigor, só podemos considerar que as estimativas de  $h^2$  são significativamente diferentes de zero, se a significância de  $b$  for testada através de um teste estatístico. Nesse exercício, o teste de significância não está sendo exigido e consideraremos os valores obtidos como significativos, mas você pode rever como são feitos os cálculos da regressão linear na disciplina de Matemática e Bioestatística. Note que o coeficiente angular é chamado de  $a$  ao invés de  $b$ , naquela disciplina.

c) Discuta os valores de herdabilidade entre os caracteres, em termos de presença de variação genética aditiva e potencial de resposta à seleção.



# Observações sobre as variações no número de cromossomos das espécies

# AULA 18

## objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Compreender os procedimentos laboratoriais para as análises citogenéticas.
- Reconhecer ploidia como mais uma fonte de variabilidade cromossômica entre as espécies.
- Identificar os mecanismos que geram as principais alterações cromossômicas numéricas.
- Reconhecer exemplos de alterações no número de cromossomos na espécie humana.

### **Pré-requisito**

Divisão celular (Aulas 2 e 3).

## INTRODUÇÃO

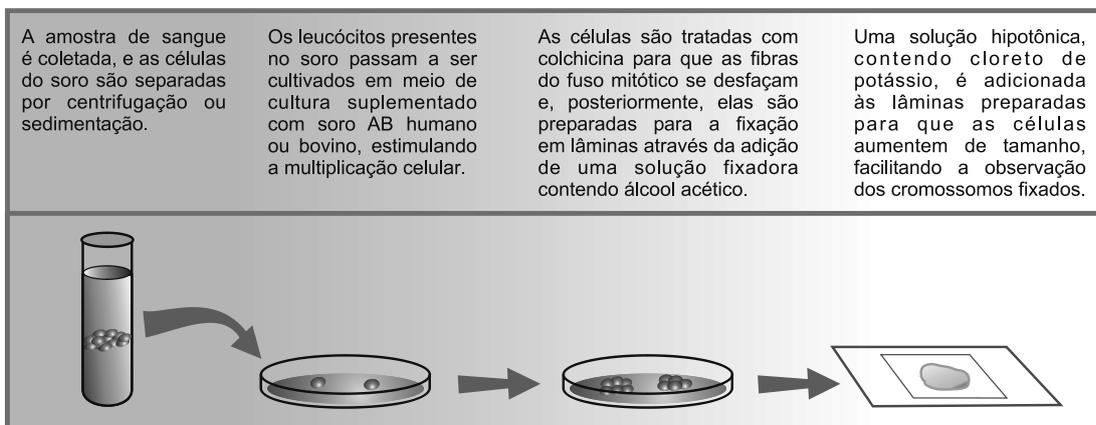
Você sabe o que é Citogenética? Pois bem, começamos a aula de hoje com uma definição e um pouco de história.

### UMA BREVE INTRODUÇÃO ÀS TÉCNICAS EM CITOGENÉTICA

A Citogenética, ciência que estuda a diversidade cromossômica das espécies, tem suas origens no século XIX, quando o desenvolvimento dos microscópios permitiu que fossem realizados os primeiros estudos visando à descrição da morfologia, da variação numérica e do comportamento dos cromossomos. Com o aperfeiçoamento dos microscópios e dos procedimentos de preparação e coloração dos cromossomos, ocorrido no século XX, foram obtidos avanços significativos neste campo e, hoje, as técnicas citogenéticas são ferramentas fundamentais em estudos, como aqueles relacionados à Biologia Evolutiva e às anomalias cromossômicas na espécie humana.

As análises citogenéticas são realizadas em células em multiplicação, geralmente na metáfase da mitose. Para aumentar o número de células nesse estágio, normalmente são utilizados tecidos de crescimento rápido, como embriões de animais e pontas de raízes de plantas. Entretanto, o desenvolvimento de técnicas de cultura tornou possível a análise citogenética em outros tipos de células.

Nos mamíferos, por exemplo, os leucócitos podem ser colhidos a partir do sangue periférico e estimulados a se multiplicar através de tratamento químico. O próximo passo é adicionar às células em multiplicação substâncias, como a colquicina, que têm capacidade de destruir os fusos acromáticos. O efeito desse tratamento é parar os cromossomos durante a metáfase da mitose, quando eles estão altamente condensados e, conseqüentemente, mais facilmente visíveis. Nesse estágio, os cromossomos encontram-se duplicados, apresentando, dessa forma, duas cromátides-irmãs. As células mitoticamente bloqueadas são imersas em uma solução hipotônica, o que faz com que elas capturem água por osmose e tornem-se túrgidas. Os componentes das células são espalhados pela adição de água, de modo que, ao se colocar as células em uma lâmina, os cromossomos fiquem dispersos e não aglomerados. As células são então fixadas com etanol e ácido acético (**Figura 18.1**).



**Figura 18.1:** Etapas da preparação de células humanas para análise citogenética.

Até o final da década de 1960 e início da de 1970, as dispersões eram coradas com o reagente de Feulgen, um corante púrpura que reage com a pentose do DNA. Este corante corava uniforme e intensamente todo o cromossomo. Embora tal corante ainda seja utilizado para análises citológicas rotineiras, atualmente, os estudos mais detalhados empregam agentes intercalantes, ou seja, corantes compostos que se inserem entre as bases do DNA.

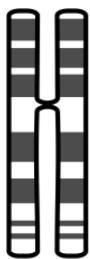
Um exemplo de agente intercalante é a quinacrina, que faz com que os cromossomos apresentem um padrão característico de bandas. Entretanto, como a quinacrina é um composto fluorescente, as bandas só aparecem quando os cromossomos são expostos à luz ultravioleta. A irradiação ultravioleta faz com que algumas das moléculas de quinacrina inseridas no cromossomo emitam energia; dessa forma, partes dos cromossomos brilham enquanto outras permanecem escuras. O mais interessante é que o padrão de bandas apresentado é característico para cada cromossomo da espécie. Assim, analisando o padrão de bandas formado (bandas claras e escuras), os citogeneticistas podem identificar com precisão cada um dos diferentes cromossomos em uma célula, avaliando possíveis alterações em sua estrutura ou número. Esse procedimento de coloração é chamado de bandeamento Q, e as bandas que o produzem são chamadas de bandas Q.

Além das técnicas fluorescentes, também foram desenvolvidas outras excelentes de coloração não-fluorescente. A mais popular delas utiliza o corante Giemsa, uma mistura de substâncias, assim denominado em homenagem a seu inventor, Gustav Giemsa. O Giemsa também cria um padrão reprodutível de bandas em cada cromossomo, porém a natureza

do padrão de bandeamento depende de como os cromossomos foram preparados antes da coloração. O procedimento chamado bandeamento G produz bandas escuras que correspondem às bandas brilhantes obtidas pela quinacrina. Um outro procedimento, chamado bandeamento R (reversa), produz um padrão inverso, cujas bandas escuras correspondem às bandas G claras. Um terceiro procedimento, chamado bandeamento C (heterocromatina constitutiva), cora as regiões ao redor do centrômero de cada cromossomo. Os telômeros dos cromossomos também podem ser corados utilizando-se o bandeamento T (telomérico). A combinação de diferentes técnicas de bandeamento permite aos citogeneticistas analisar detalhes minuciosos da estrutura cromossômica (Figura 18.2).

### Cromossomo 7

padrão de bandas

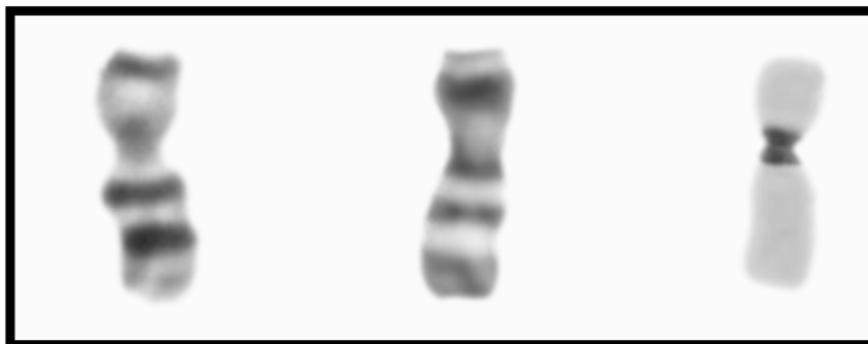


(bandeamento G)

bandeamento G

bandeamento R

bandeamento C



**Figura 18.2:** Comparação entre diferentes tipos de bandeamento cromossômico, para o cromossomo 7 em humanos. O padrão de bandas deste cromossomo foi estabelecido a partir da técnica de bandeamento G. Note, no entanto, que nem todas as bandas podem ser facilmente visualizadas; diferentes preparações são necessárias para a visualização de todas as bandas de um cromossomo. Adaptado de foto cedida por Rosa Rita dos Santos Martins.

Atualmente vem se utilizando para algumas análises citogenéticas a técnica de hibridação *in situ* fluorescente ou FISH. Um segmento especificamente marcado de DNA (sonda) é hibridado a seqüências cromossômicas homólogas em células metafásicas, profásicas ou interfásicas. E como isso funciona? Ao tentar compreender um pouco mais, veremos que os cromossomos são desnaturados e hibridados com uma sonda de DNA marcada com biotina. Com a adição de um anticorpo biotilado marcado com fluoresceína, o local do cromossomo contendo a seqüência de interesse é identificado quando exposto à luz fluorescente.

Essa técnica pode ser aplicada para a detecção de aneuploidias (adiante veremos mais sobre esse assunto), na determinação da origem de cromossomo marcador e na análise de rearranjos cromossômicos com maior rapidez e precisão.

## O CARIÓTIPO

Como você já viu em aulas anteriores, as características do conjunto cromossômico de uma espécie são conhecidas como seu cariótipo. Uma caracterização clara e precisa do cariótipo de uma espécie é de fundamental importância quando se quer comparar citogeneticamente espécies diferentes, ou examinar a variação cromossômica entre indivíduos da mesma espécie. A representação do cariótipo pode ser feita na forma de *cariograma* ou de *idiograma*.

O cariograma é construído a partir da fotografia de uma metáfase em que os cromossomos estão corados e individualizados (**Figura 18.3**). Esses cromossomos são recortados e os homólogos emparelhados e enumerados dentro de uma determinada ordem. Já o idiograma consiste numa representação esquemática do cariótipo, utilizando valores médios da posição do centrômero e do tamanho de cada cromossomo do conjunto monoploide.



**Figura 18.3:** Cariótipo humano corado com Giemsa (bandeamento G). Foto cedida por Rosa Rita dos Santos Martins.

O tamanho do cromossomo varia de aproximadamente  $0,5 \mu\text{m}$  em muitas espécies de fungos, e mesmo em alguns microorganismos superiores, até cerca de  $36 \mu\text{m}$  numa monocotiledônia do gênero *Trillium*. Na maioria das espécies, o tamanho médio é em torno de 5 a  $6 \mu\text{m}$ . Em muitos cariótipos ocorrem cromossomos com grande variação de tamanho. Essa variação geralmente é gradativa (cariótipo simétrico), como na espécie humana, mas pode também ser brusca (**CARIÓTIPO ASSIMÉTRICO**), com alguns poucos cromossomos grandes e muitos cromossomos pequenos.

#### **CARIÓTIPO ASSIMÉTRICO**

O significado evolutivo do cariótipo assimétrico ainda não está bem esclarecido. Admite-se que eles surgiram a partir dos simétricos. A hipótese mais aceita para explicar a vantagem da assimetria admite que os cromossomos maiores surgiram por repetidas transferências de material genético de vários cromossomos para um ou alguns deles. Nesse caso, os cromossomos maiores poderiam conter grupos de genes funcionalmente relacionados que teriam sido gradativamente reunidos. O acúmulo em um ou poucos “macrochromossomos” reduziria a recombinação entre esses genes, levando a um maior número de descendentes com a melhor combinação de algumas características. Por outro lado, os cromossomos menores conteriam outros genes que, recombinados, garantiriam a necessária flexibilidade da espécie para outras características.

#### **A PLOIDIA**

Como vimos em aulas anteriores, cada espécie possui um conjunto característico de cromossomos. Nas células somáticas da maioria das espécies, como na espécie humana, esse conjunto básico está representado em dose dupla. Ou seja, cada um dos cromossomos da espécie está presente em duas cópias. Mas há algumas poucas espécies em que o conjunto básico de cromossomos está em múltiplas cópias. São as espécies chamadas poliplóides.

Quando se considera a ploidia, um conjunto básico de cromossomos é chamado de conjunto monoplóide ( $x$ ), pois inclui apenas um cromossomo de cada tipo. Os organismos com três conjuntos básicos são ditos triplóides ( $3x$ ), com quatro tetraplóides ( $4x$ ) e assim sucessivamente.

Os termos haplóide e monoplóide causam muita confusão, pois alguns autores consideram esses termos como sinônimos, mas outros, e concordamos com esses últimos, fazem distinção entre eles, definindo como haplóide a célula, indivíduo ou espécie que possui o número de cromossomos igual ao número de cromossomos do gameta ( $n$ ). Essa sutil diferença talvez fique mais clara com os exemplos a seguir.

Antes porém, precisamos deixar claro que, independentemente da ploidia, as células somáticas, em geral, possuem o dobro do número de cromossomos presentes em seus gametas, ou seja,  $2n$ , uma vez que o número de cromossomos de uma célula meiótica é reduzido à metade para formar os gametas; exceto no caso dos organismos haplóides, nos quais as células somáticas possuem o mesmo número de cromossomos de seus gametas ( $n$ ).

Então, imagine uma espécie **A** diplóide ( $2x$ ) que possui em seu conjunto monoplóide nove cromossomos ( $x = 9$ ). Ou seja, o número de cromossomos de tipos diferentes nessa espécie é igual a 9 e eles

estão em dose dupla em suas células somáticas ( $2x = 18$ ). Como os gametas possuem 9 cromossomos, este é o número haplóide ( $n = 9$ ) de cromossomos dessa espécie. Nesse caso, o número de cromossomos nos gametas, número haplóide ( $n$ ), é igual ao número básico de cromossomos, número monoplóide ( $x$ ):  $n = x = 9$  e, conseqüentemente, as células somáticas podem ser ditas  $2n = 2x = 18$ .

Agora vejamos um outro exemplo. Uma espécie **B** hexaplóide ( $6x$ ) possui o número básico de cromossomos ( $x$ ) igual a 3. Por ser hexaplóide, suas células somáticas possuem seis conjuntos monoplóides, ou seja,  $6x = 18$ . Os gametas dessa espécie possuem, então, 9 cromossomos, sendo esse o número haplóide da espécie **B**. Nesse caso, o número haplóide da espécie ( $n = 9$ ) não é igual ao número monoplóide ( $x = 3$ ) e, conseqüentemente, as células somáticas podem ser ditas  $2n = 6x = 18$ .

Como a maioria das espécies é diplóide, caso em que  $x = n$ , o termo monoplóide é pouco utilizado, ficando restrito aos casos onde há referência a séries poliplóides.

Há várias espécies de insetos, como as abelhas, onde os machos são monoplóides. A poliploidia, por outro lado, é comum em plantas. Metade de todos os gêneros de plantas conhecidos contém espécies poliplóides. Entre elas, podemos citar algumas bem conhecidas: banana, morango, trigo, batata, café, algodão, rosas e tulipas. Já em animais, embora existam exemplos, como em algumas espécies de peixes, a poliploidia é rara, provavelmente devido à maior incidência de reprodução sexuada. Como veremos adiante, indivíduos poliplóides formam, muitas vezes, gametas inviáveis. Um número ímpar de conjuntos cromossômicos torna o organismo estéril, porque não há um parceiro para cada cromossomo na meiose, enquanto os números pares de conjuntos podem produzir um padrão normal de segregação.

### A esterilidade nos poliplóides

Vamos considerar, como exemplo, uma célula triplóide com três conjuntos idênticos de cromossomos (3x). Quando ocorre a meiose, cada cromossomo tenta emparelhar com seu homólogo (Figura 18.4). Uma possibilidade é que os três homólogos emparelhem formando um *trivalente*, no qual cada membro é parcialmente emparelhado com os outros dois. Uma outra possibilidade é que dois homólogos emparelhem completamente ao longo de seu comprimento, deixando o terceiro sem parceiro. Esse cromossomo solitário é chamado de *univalente*. Os centrômeros dos cromossomos emparelhados segregam para os pólos opostos, mas o cromossomo solitário irá, aleatoriamente, para um dos pólos. O resultado final de ambas as possibilidades de emparelhamento é uma segregação desigual, com dois cromossomos indo em uma direção e um na outra. Isso acontece para cada trinca de cromossomos.

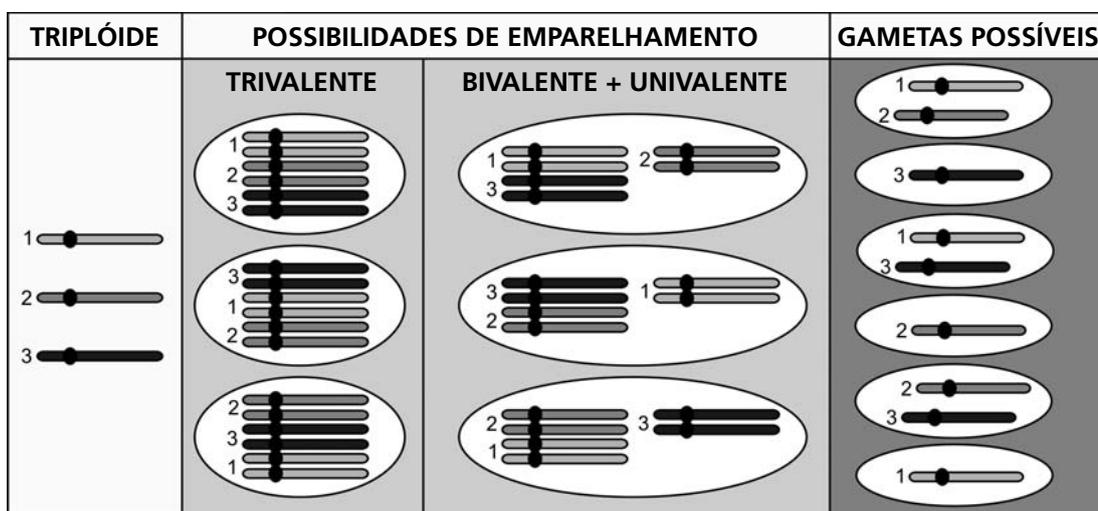
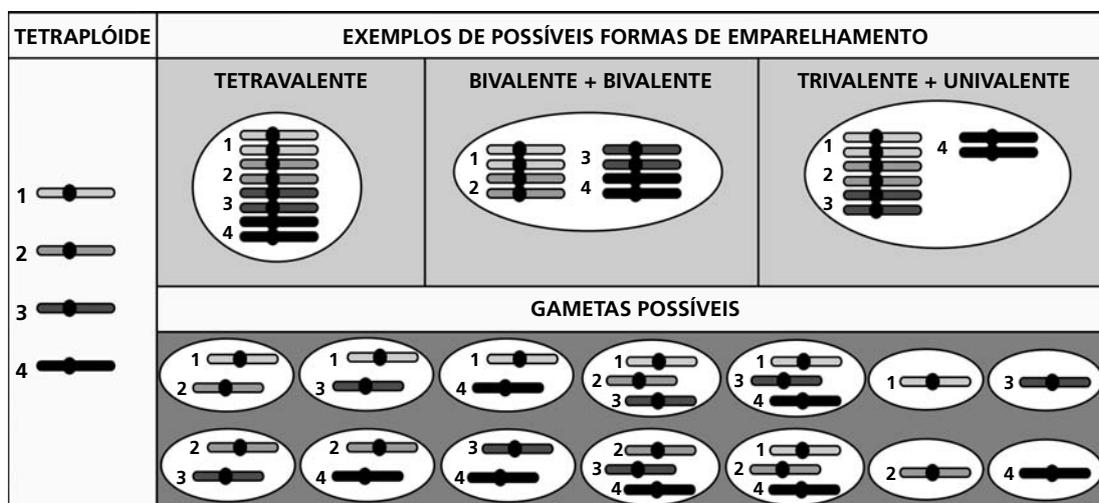


Figura 18.4: Possibilidades para o emparelhamento de três cromossomos homólogos em um indivíduo triplóide durante a meiose, e todos os tipos de gametas que este indivíduo pode formar.

Os gametas formados só serão viáveis se todos os univalentes de cada trinca forem para o mesmo pólo, gerando um conjunto haplóide de cromossomos. Porém, como a probabilidade de isso ocorrer é  $(1/2)^{x-1}$ , em que x representa o número de cromossomos existente em cada conjunto cromossômico, a chance de formar gametas variáveis será pequena.

Vamos analisar o caso das bananas: as bananas comercialmente disponíveis são triploides, com 11 cromossomos em cada conjunto ( $3x = 33$ ). A probabilidade de uma meiose, na qual todos os univalentes passem para o mesmo pólo, é de  $(1/2)^{10} = 1/1.024$ . Note que essa é a probabilidade de uma planta produzir um gameta viável, mas para que uma nova planta seja originada por fecundação, seria necessário que, pelo menos, dois gametas viáveis fossem produzidos e que um deles fosse fecundado pelo outro. Dessa forma, as bananas, como outros organismos com número de conjuntos cromossômicos ímpares, são efetivamente estéreis.

Nos tetraploides, o fator crucial é, novamente, como os quatro cromossomos homólogos emparelham e segregam. Existem várias possibilidades, como mostrado na **Figura 18.5**. Os emparelhamentos de dois bivalentes ou de quadrivalentes tendem a ser os mais comuns, mas mesmo aqui não há garantias de uma segregação 2:2. Se todos os conjuntos cromossômicos segregarem 2:2, como fazem em algumas espécies, então os gametas serão funcionais.

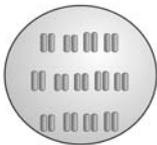
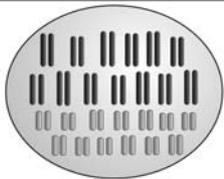


**Figura 18.5:** Exemplos de possibilidades de emparelhamento na meiose dos tetraploides, e os tipos de gametas que podem ser formados.



A colquicina é uma droga (alcalóide), extraída principalmente das sementes e do corpo de uma planta da família Liliaceae denominada colquico (*Colchicum autumnale*), que tem a propriedade de inibir a formação do fuso durante a divisão celular. A colquicina se liga às proteínas (tubulinas) que formam as fibras do fuso, impedindo a sua polimerização, de modo que os microtúbulos se desfazem. Os cromossomos das células tratadas se duplicam corretamente, mas como a formação do fuso é inibida, a fase citoplasmática da divisão celular não ocorre. Em vez disto, ocorre a restituição do núcleo que pode apresentar o seu número cromossômico completamente duplicado. Plantas diplóides foram submetidas à ação da colquicina e algumas delas passaram a produzir sementes que originavam indivíduos muito maiores do que os das linhagens originais. O aumento no tamanho desses indivíduos deve estar relacionado à poliploidia, induzida pela ação da colquicina.

Exames citogenéticos demonstram que grande parte dos tetraplóides contém dois conjuntos distintos de cromossomos e que cada conjunto foi duplicado. Assim, os tetraplóides férteis parecem ter surgido de duplicação cromossômica em um híbrido que foi produzido por um cruzamento de duas espécies diplóides diferentes, porém relacionadas. Os poliplóides criados por hibridação entre espécies diferentes são chamados de alopoliplóides (do prefixo grego “*alló*” = “outro”, “diferente”). Nesses poliplóides, os genomas contribuintes são qualitativamente diferentes (Figura 18.6). Os poliplóides criados por duplicação cromossômica dentro de uma espécie são chamados de autopoliplóides (do prefixo grego *autos* = “mesmo”, “si mesmo”). Nesses poliplóides, um único genoma foi multiplicado, criando conjuntos extras de cromossomos.

Cromossomos	Algodão do Velho Mundo	Algodão americano	Híbrido estéril	Alotetraplóide fértil
Número de pares de cromossomos nas células somáticas	 <p>13 pares de cromossomos grandes</p>	 <p>13 pares de cromossomos pequenos</p>	 <p>13 cromossomos grandes e 13 cromossomos pequenos</p>	 <p>13 pares de cromossomos grandes e 13 pares de cromossomos pequenos</p>
Número de cromossomos nos gametas	 <p>13 cromossomos grandes</p>	 <p>13 cromossomos pequenos</p>	<p>A grande maioria dos gametas deste híbrido é inviável, sendo muito pequena a probabilidade de formar um gameta viável (<math>=1/2^{25}</math>)</p>	 <p>13 cromossomos grandes e 13 cromossomos pequenos</p>

**Figura 18.6:** Comparação entre os genomas de diferentes espécies de algodão e os tipos de gametas que cada espécie produz. O híbrido estéril é gerado a partir da hibridização dos gametas do algodão do Velho Mundo e do algodão americano. O alotetraplóide fértil pode ser formado a partir da duplicação dos cromossomos nas células do tecido germinativo de um híbrido estéril que passa, então, a produzir gametas viáveis. A união destes gametas dá origem a uma planta alotetraplóide com meiose normal, uma vez que os cromossomos homólogos podem se emparelhar dando origem a gametas viáveis.

## ANEUPLOIDIAS

A aneuploidia descreve uma alteração numérica em parte do genoma – em geral, uma mudança na dosagem de um único cromossomo. São considerados aneuplóides os indivíduos que têm um cromossomo extra, os que têm um cromossomo ausente ou aqueles que possuem uma combinação destas anomalias. A nomenclatura dos aneuplóides é baseada no número de cópias do cromossomo específico. Por exemplo, a condição aneuplóide  $2n - 1$  é chamada *monossômica* devido à presença de apenas uma cópia de algum cromossomo específico, em vez das duas normalmente encontradas. O aneuplóide  $2n + 1$  é chamado de *trissômico* e  $2n - 2$  de *nulissômico*.

### Nulissomia ( $2n - 2$ )

Apesar de a nulissomia ser uma condição letal nos diplóides, um organismo hexaplóide como o trigo pode tolerá-la. Os quatro cromossomos **HOMEÓLOGOS** restantes, aparentemente, compensam o par ausente de homólogos. De fato, todos os possíveis nulissômicos de trigo mostraram ser viáveis, apesar de possuírem aspectos diferentes dos hexaplóides normais.

### Monossomia ( $2n - 1$ )

A monossomia, em geral, é deletéria nos diplóides por dois motivos principais: o cromossomo ausente perturba o balanço geral do conjunto cromossômico; e o fato de ter um cromossomo a menos permite que qualquer alelo recessivo deletério no outro homólogo fique em hemizigose e, portanto, se expresse diretamente no fenótipo.

A *não-disjunção* na mitose ou meiose é a principal causa da maioria das aneuploidias. A disjunção é a separação normal dos cromossomos homólogos ou das cromátides-irmãs para os pólos opostos na divisão celular. A não-disjunção é uma falha desse processo que faz com que dois cromossomos se dirijam para um pólo e nenhum para o outro. A não-disjunção ocorre espontaneamente; portanto, é uma falha casual de um processo celular básico. Não são conhecidos os processos moleculares exatos que ocorrem na não-disjunção, mas em sistemas experimentais a frequência de não-disjunções pode ser aumentada pela interferência na ação dos microtúbulos.

#### HOMEÓLOGOS

Os cromossomos homeólogos são derivados de conjuntos cromossômicos de espécies diferentes e, portanto, parcialmente homólogos.

Durante a meiose, a não-disjunção pode ocorrer tanto na primeira como na segunda divisão (Figura 18.7). De qualquer modo, são produzidos gametas  $n + 1$  e  $n - 1$ . Repare que se a não-disjunção ocorrer na primeira divisão, metade dos gametas serão  $n - 1$  e metade  $n + 1$ . Entretanto, se a não-disjunção ocorrer na segunda divisão, o resultado será metade dos gametas normais,  $\frac{1}{4} n - 1$  e  $\frac{1}{4} n + 1$ . Se um gameta  $n + 1$  for fecundado por um gameta  $n$ , será produzido um zigoto trissômico  $2n + 1$ . Mas a fusão de um gameta  $n - 1$  com um gameta  $n$  produz um zigoto monossômico  $2n - 1$ .

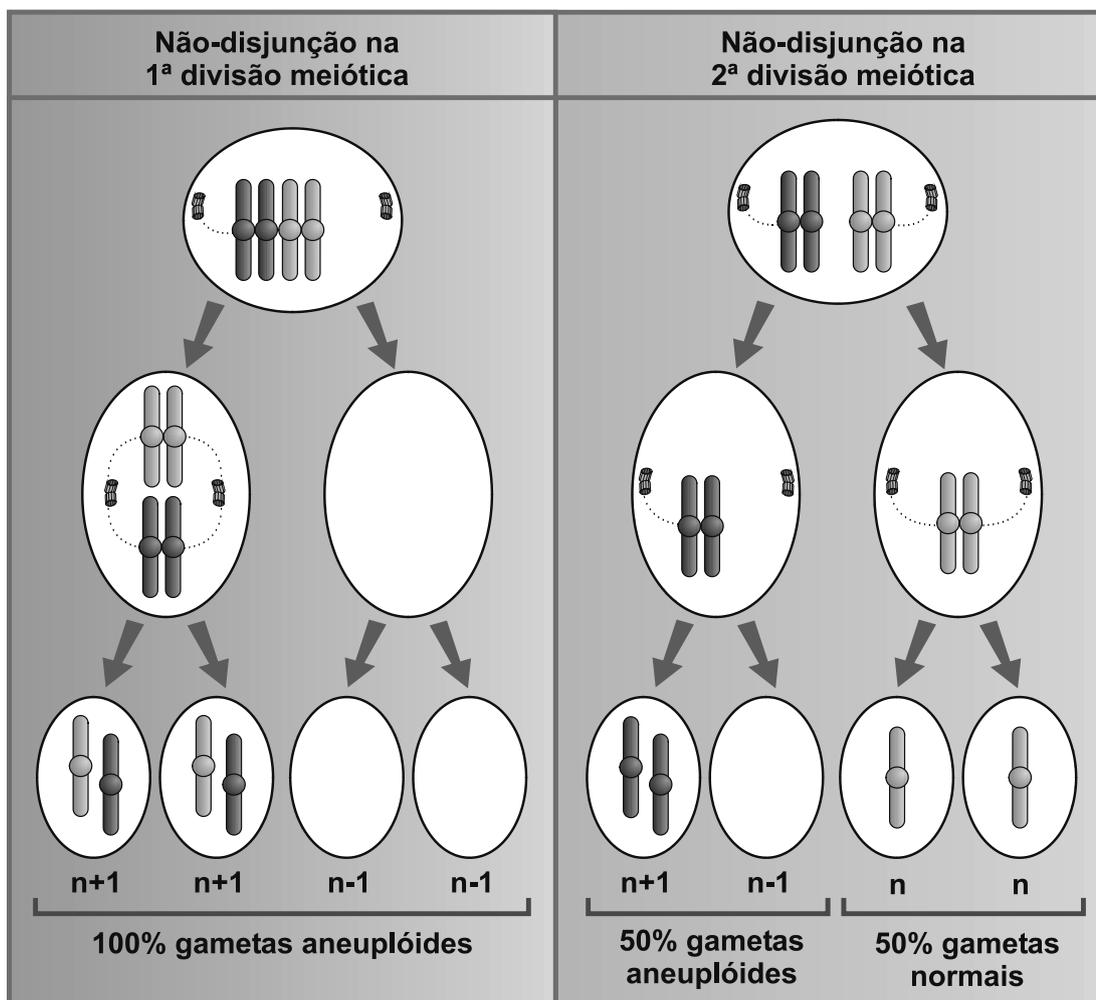
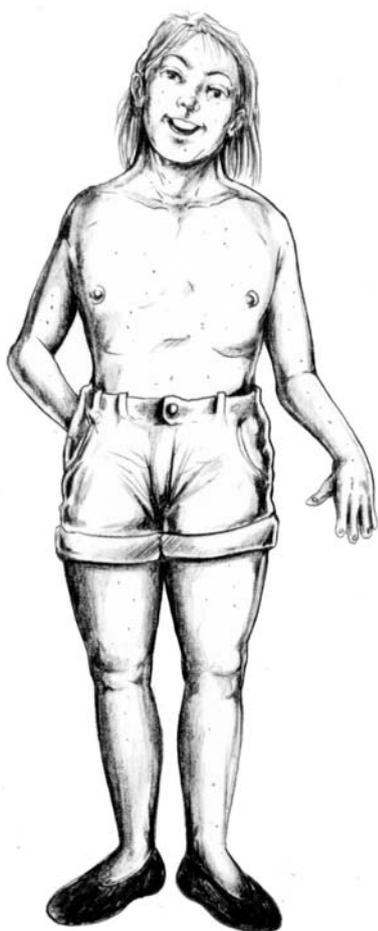


Figura 18.7: Origem de gametas aneuplóides por não-disjunção na primeira ou na segunda divisão meiótica. O esquema apresenta apenas o par de homólogos em questão.

Nos seres humanos, há uma monossomia viável, o cariótipo 45, X (44 autossomos + 1 X). Essas pessoas têm um único cromossomo X e são portadoras da *síndrome de Turner* (uma homenagem a Henry H. Turner, quem primeiro descreveu a condição, em 1938). Fenotipicamente, elas são mulheres, mas como seus ovários são rudimentares, elas são quase sempre estéreis. Normalmente possuem estatura baixa, pescoço alado (aba de pele entre o pescoço e o ombro), deficiências auditivas e anomalias cardiovasculares significativas (**Figura 18.8**). Embora sua inteligência seja quase normal, algumas de suas funções cognitivas específicas são deficientes.



### PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS:

Crescimento anormal  
(causa baixa estatura)

Implantação baixa  
dos cabelos

Pescoço “alado”  
(excesso de pele)

Tórax em “escudo”  
(mais largo do que  
o normal)

Pouco desenvolvimento  
das mamas e mamilos  
muito espaçados

Deformidade  
no cotovelo

Quarto metacarpiano  
reduzido

Unhas pequenas

Manchas marrons  
na pele

Coartação da aorta



Ovários rudimentares



Deformidade nos pés



**Figura 18.8:** Características de uma portadora da síndrome de Turner, que resulta da presença de um só cromossomo X.

As pessoas 45, X, também conhecidas com XO, podem originar-se de ovócitos ou de espermatozóides com falta de um cromossomo sexual, ou da perda de um cromossomo sexual na mitose após a fertilização. Nesse último caso, as pacientes com síndrome de Turner são mosaicos somáticos, ou seja, possuem no corpo dois tipos de células: algumas são 45, X e outras 46, XX. Cerca de 1 em cada 5.000 nascimentos femininos tem esse complemento cromossômico monossômico. Os monossômicos para qualquer dos autossomos humanos são inviáveis.

### Trissomia (2n + 1)

A condição trissômica também é um desequilíbrio cromossômico e pode resultar em anomalia ou morte. Entretanto, existem muitos exemplos de trissômicos viáveis e, em alguns casos, férteis. Quando as células de organismos trissômicos são observadas ao microscópio durante o emparelhamento meiótico, os cromossomos trissômicos formam um trivalente, enquanto os outros cromossomos formam bivalentes normais.

O tipo mais comum de aneuploidia humana viável é a *síndrome de Down*, uma condição associada a um cromossomo 21 extra. Essa síndrome foi descrita em 1866 por um médico inglês, Langdon Down, mas sua base cromossômica só foi compreendida em 1959. Ela pode ser causada pela não-disjunção do cromossomo 21 em um genitor cromossomicamente normal. Após a fecundação, o indivíduo formado terá um total de 47 cromossomos, incluindo dois cromossomos sexuais, além de um cromossomo 21 extra. O cariótipo desta pessoa é, portanto, escrito como 47, XX, +21 (Figura 18.9.a) ou 47, XY, +21; dependendo do sexo.

As pessoas com síndrome de Down são tipicamente de baixa estatura e com articulações frouxas, particularmente nos tornozelos. Têm crânio largo, narinas largas, olhos com pregas epicânticas e fenda palpebral inclinada, língua grande com sulcos distintos e mãos pequenas com um vinco na palma. As habilidades mentais debilitadas, com QI na faixa de 20 a 50, requerem que tenham treinamento e cuidados especiais (Figura 18.9.b).

a



**PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS:**

Crescimento anormal  
(causa baixa estatura)

Características faciais:

- face larga e achatada
- fenda palpebral inclinada
- ponte nasal curta
- palato pequeno e arcado
- anomalias dentárias

Ausência unilateral ou bilateral de uma costela

Pelve anormal

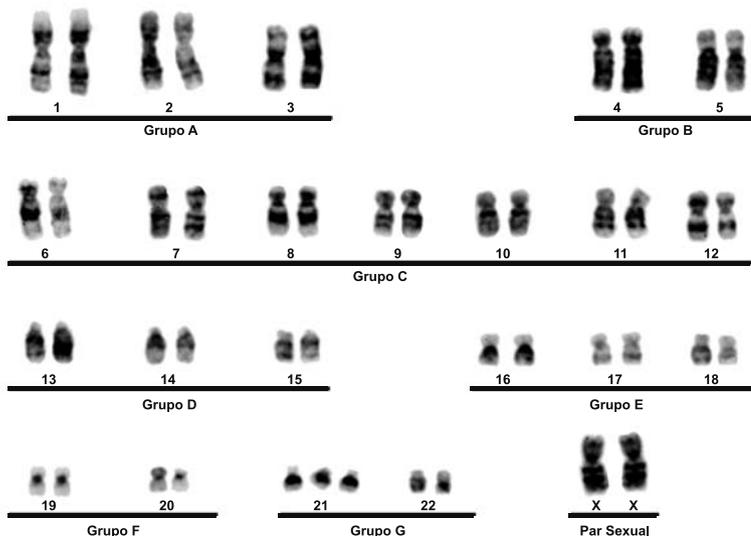
Tônus muscular diminuído

Podem apresentar:

- doença cardíaca congênita
- hérnia umbilical
- obstrução intestinal
- aumento do cólon

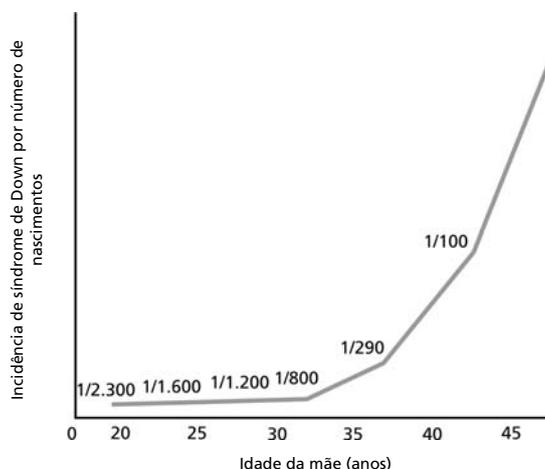


b



**Figura 18.9:** Características da síndrome de Down: a) Características da síndrome em uma criança; b) Cariótipo de uma criança afetada. Note a presença de 3 cromossomos 21 no grupo G.

A não-disjunção pode ocorrer em qualquer um dos genitores, mas parece ser mais freqüente nas mulheres. Além disso, a freqüência de não-disjunção aumenta com a idade materna. Mães com idade mais avançada correm um risco maior de terem filhos com síndrome de Down (**Figura 18.10**). Por esse motivo, a análise cromossômica fetal (por amniocentese ou punção de vilosidades coriônicas) hoje é recomendada para mães com mais idade. Esse aumento de risco se deve a fatores que afetam adversamente o comportamento cromossômico meiótico à medida que a mulher envelhece. Nas mulheres, a meiose começa no feto, mas não se completa até que o ovócito seja fertilizado. Durante o longo tempo antes da fertilização, as células meióticas estão paradas na prófase da primeira divisão. Quanto mais tempo na prófase, maior a chance de ocorrer uma não-disjunção. As mulheres com mais idade são, portanto, mais propensas a produzir ovócitos aneuplóides do que as mais jovens.

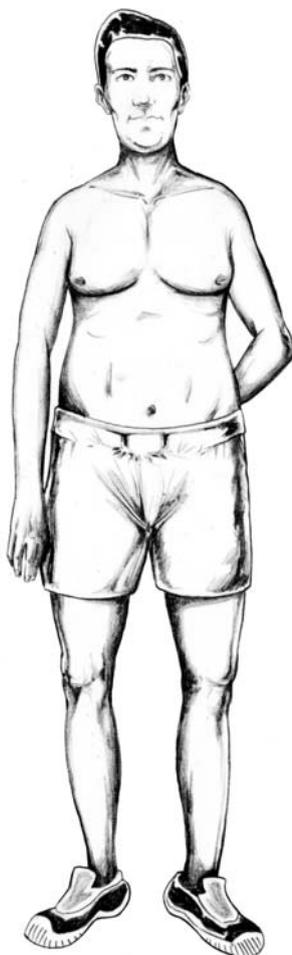


**Figura 18.10:** Gráfico relacionando à idade materna com a produção de prole com síndrome de Down.

Também foram relacionadas trissomias para os cromossomos 13 e 18. Entretanto, elas são raras, e as pessoas afetadas apresentam graves anomalias fenotípicas, geralmente vivendo muito pouco. Outra trissomia viável observada em seres humanos é o cariótipo 47, XXX (triplo X). As pessoas triplo X são mulheres, em geral fenotipicamente normais, e sobrevivem porque dois dos três cromossomos X são inativados, reduzindo efetivamente a dosagem de cromossomos X para o nível normal de apenas um. Mas, às vezes essas mulheres apresentam um leve retardo mental e fertilidade reduzida.

O cariótipo 47, XXY é também uma trissomia viável em seres humanos (1 em 1.000 nascimentos masculinos). Fenotipicamente, esses indivíduos são do sexo masculino, mas podem apresentar algumas características sexuais femininas e, em geral, são estéreis.

Em 1942, H. F. Klinefelter descreveu as anomalias associadas a essa condição, hoje chamada de *síndrome de Klinefelter*. Elas incluem testículos pequenos, aumento de mamas, membros longos, joelhos salientes e poucos pêlos no corpo (**Figura 18.11**). O cariótipo XXY pode originar-se da fertilização de um ovócito excepcional XX por um espermatozóide Y, ou pela fertilização de um ovócito X por um espermatozóide excepcional XY.



### PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS:

- Alta estatura
- Ausência de “entradas” de calvície
- Ginecomastia (desenvolvimento de mamas)
- Quadris largos
- Tendência a perder pêlos do tórax
- Pouco crescimento de barba
- Atrofia peniana e testicular
- Disposição dos pêlos pubianos assemelhando-se ao padrão feminino
- Chances maiores de desenvolver osteoporose

**Figura 18.11:** Características da síndrome de Klinefelter (XXY).

O cariótipo XXY constitui cerca de três quartos de todos os casos de síndrome de Klinefelter. Outros casos envolvem cariótipos mais complexos, como XXYY, XXXY e XXXYY. Todas as pessoas com síndrome de Klinefelter têm um ou mais corpúsculos de Barr em suas células. Aquelas com mais de dois cromossomos X, em geral, têm algum grau de retardo mental.

Uma outra trissomia viável em seres humanos é o cariótipo 47, XYY. Estes indivíduos são masculinos e, exceto por uma tendência a serem mais altos que a média, não apresentam uma síndrome consistente de anomalias. Foram feitas tentativas de associar a condição XYY a uma predisposição à violência. Essa associação ainda é muito debatida, embora agora esteja claro que uma condição XYY não é uma garantia de tal comportamento. Os homens XYY em geral são férteis e seus gametas contêm ou X ou Y, mas não YY ou XY.

Outras trissomias em seres humanos são letais embrionariamente, demonstrando a importância da dosagem gênica correta.

Na próxima aula analisaremos as alterações na estrutura dos cromossomos, suas causas e conseqüências.

## RESUMO

Uma caracterização clara e precisa do cariótipo de uma espécie é de fundamental importância quando se quer comparar cromossomos de espécies diferentes ou examinar a variação cromossômica entre indivíduos da mesma espécie. Dessa forma, a Citogenética, ciência que estuda a diversidade cromossômica das espécies, se desenvolveu como uma ferramenta fundamental em estudos, como aqueles relacionados à Biologia Evolutiva e às anomalias cromossômicas na espécie humana.

Embora a maioria das espécies seja diplóide, organismos polipóides (aqueles que apresentam múltiplas cópias do conjunto cromossômico básico) são, relativamente, comuns no reino vegetal e estão presentes, até mesmo, no reino animal. No entanto, os organismos que possuem número ímpar de conjuntos cromossômicos, como os triploídes, apresentam segregação irregular dos cromossomos homólogos durante a meiose, formando gametas inviáveis e reproduzindo-se, em geral, assexuadamente.

A aneuploidia é um tipo de condição onde há variação (perda ou ganho) no número de cópias de um cromossomo específico. Os exemplos de aneuploidias incluem monossomias ( $2n-1$ ), trissomias ( $2n+1$ ) e nulissomias ( $2n-2$ ) que, em geral, resultam da não-disjunção cromossômica na meiose ou mitose. Nesse último caso, pode-se observar organismos que são mosaicos somáticos. As condições aneuploídes são bastante estudadas em nossa espécie, sendo responsáveis por uma alta porcentagem das anomalias genéticas em humanos. A síndrome de Down (trissomia do 21), a síndrome de Klinefelter (XXY) e a síndrome de Turner (X0) são exemplos bem documentados.

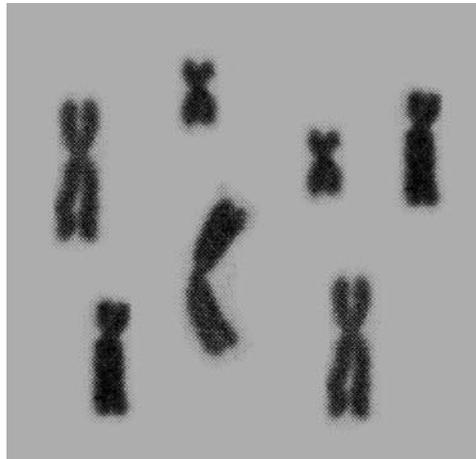
## EXERCÍCIOS

1. Em algumas plantas, as áreas em crescimento na extremidade do caule e nos brotos laterais têm três camadas de células distintas. A camada externa se torna a epiderme, a camada média dá origem às células reprodutivas e a camada interna produz as partes internas do caule e das folhas. Quando se coloca colquicina no meio em que essas extremidades estão crescendo, pode haver uma interferência na divisão celular que resulta no surgimento de células com o número de cromossomos duplicado. Caso a colquicina afete a mitose de uma célula da camada intermediária, é possível que haja a formação de gametas com o número de cromossomos duplicado. Considere uma planta diplóide. A partir dessas informações, como você sintetizaria um indivíduo triplóide com genótipo *Aaa*?

2. Em 1928, G. Karpechenko produziu um híbrido a partir do cruzamento entre dois vegetais da mesma família (*Brassicaceae*), porém pertencentes a gêneros diferentes, o rabanete, *Raphanus sativus*, e o repolho, *Brassica oleracea*. Karpechenko pretendia obter um híbrido fértil que possuísse a raiz do rabanete e as folhas do repolho. Ambos, rabanete e repolho, possuem 9 pares de cromossomos. O híbrido obtido possuía 18 cromossomos e era, pelo menos a princípio, estéril. Contudo, um dia, algumas sementes desse híbrido passaram a produzir indivíduos férteis com 36 cromossomos. O híbrido fértil cruzado com qualquer das duas espécies parentais produzia descendência estéril. Assim, Karpechenko propôs o nome *Raphanobrassica* para esse híbrido. Infelizmente, *Raphanobrassica* tem a folhagem do rabanete e a raiz do repolho. Proponha uma hipótese para explicar a esterilidade inicial do híbrido e sua posterior fertilidade.

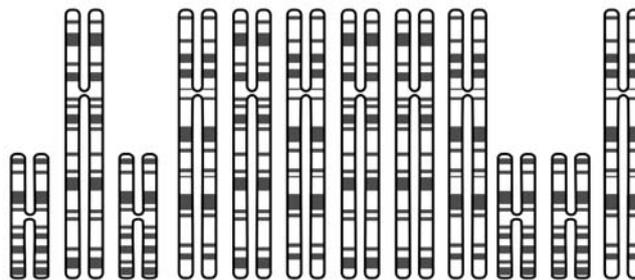
3. Uma mulher com síndrome de Turner é daltônica. Tanto sua mãe quanto seu pai têm visão normal. Como seu daltonismo pode ser explicado? Esse resultado nos diz se a não-disjunção ocorreu no pai ou na mãe? Repita a pergunta para um homem daltônico com síndrome de Klinefelter. Lembre-se de que o daltonismo é um distúrbio recessivo ligado ao X.

4. Considere uma espécie hipotética  $2x = 2n = 8$  que, como algumas espécies animais e vegetais, não possui cromossomos sexuais. O cariótipo a seguir foi obtido a partir de uma célula em metáfase da mitose de um indivíduo dessa espécie que apresenta um fenótipo anormal.



Observe se existe algum tipo de aneuploidia. Caso exista, determine qual é o tipo desta aneuploidia e como este indivíduo pode ter sido originado, levando em consideração possíveis distúrbios ocorridos durante a meiose de seus progenitores.

5. O idiograma a seguir representa os cromossomos do núcleo de uma célula somática de uma espécie de planta que não possui cromossomos sexuais.



Determine, nessa espécie:

- o número básico de cromossomos ( $x$ );
- o número haplóide de cromossomos ( $n$ );
- a ploidia;
- o número de cromossomos em uma célula somática ( $2n$ ).

# Alterações na estrutura dos cromossomos

# AULA 19

## objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Conhecer os principais mecanismos de alterações na estrutura dos cromossomos e relacioná-los com seus efeitos fenotípicos.
- Reconhecer que o genoma é dinâmico e que as mutações cromossômicas são fontes para sua reestruturação e evolução.

### **Pré-requisitos**

Divisão celular (Aulas 2 e 3).  
Observações sobre as variações no número de cromossomos das espécies (Aula 18).

## INTRODUÇÃO

Na natureza, existe uma variação considerável no número e na estrutura dos cromossomos, mesmo entre organismos proximamente relacionados. Espécies pertencentes a um mesmo gênero podem apresentar composições cromossômicas bastante diferentes e, mesmo dentro de uma espécie, pode-se observar variações dos arranjos cromossômicos. Essas observações evidenciam a contínua reestruturação do genoma ao longo da evolução das espécies. Os rearranjos cromossômicos podem mudar a posição de um segmento dentro de um cromossomo ou podem juntar segmentos de cromossomos diferentes. Em ambos os casos, a organização dos genes é alterada. Além disso, podemos ter a perda ou duplicação de um segmento cromossômico. Na aula de hoje, vamos considerar quatro tipos de alterações na estrutura dos cromossomos: as deleções, que consistem na perda de um segmento cromossômico; as duplicações, que consistem na presença de duas ou mais cópias de uma região cromossômica; as inversões, que envolvem uma mudança na orientação de um segmento dentro de um cromossomo; e as translocações, que envolvem a troca ou fusão de segmentos de cromossomos diferentes.

## DELEÇÕES

Para que ocorra a deleção de um segmento cromossômico, é necessário que ocorram duas quebras cromossômicas, uma em cada ponta do segmento, de modo a separar a região intercalar. Se as duas pontas formadas se unirem, com uma delas contendo o centrômero, o resultado é a formação de um cromossomo completo, porém mais curto. O fragmento deletado não possuirá o centrômero, logo será perdido. Esse processo pode ocorrer tanto de forma espontânea como induzida por radiação ionizante (raios X e raios  $\gamma$ ), por exemplo.

O modo pelo qual as quebras se reúnem determina o tipo de rearranjo produzido. No caso de ocorrer duas quebras, é produzida uma deleção intersticial, mas se ocorrer uma única quebra o resultado pode ser uma deleção terminal (Figura 19.1). As deleções terminais são raras, pois a falta da região telomérica causa instabilidade ao cromossomo.

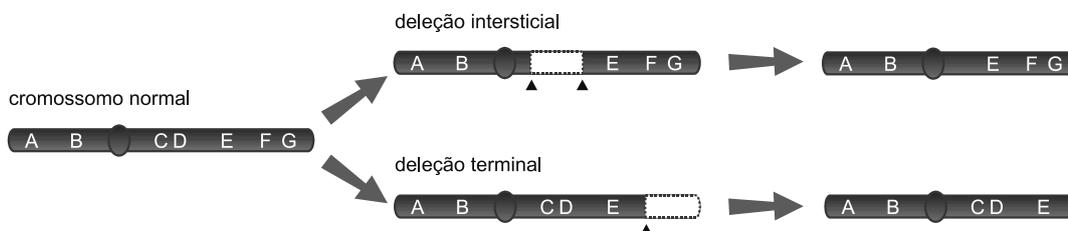
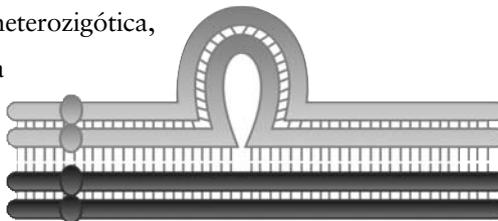


Figura 19.1: Exemplos de deleções terminais e intersticiais.

Os efeitos das deleções dependem do seu tamanho. Uma pequena deleção dentro de um gene, chamada deleção intragênica, pode inativar o gene e ter o mesmo efeito que outras mutações nulas nesse gene. Já as deleções que removem dois ou mais genes são chamadas deleções multigênicas. Se tal deleção se tornar homozigota (isto é, ambos os homólogos tiverem a mesma deleção), então a combinação quase sempre será letal. Esse resultado sugere que a maioria das regiões cromossômicas é essencial para a viabilidade do indivíduo.

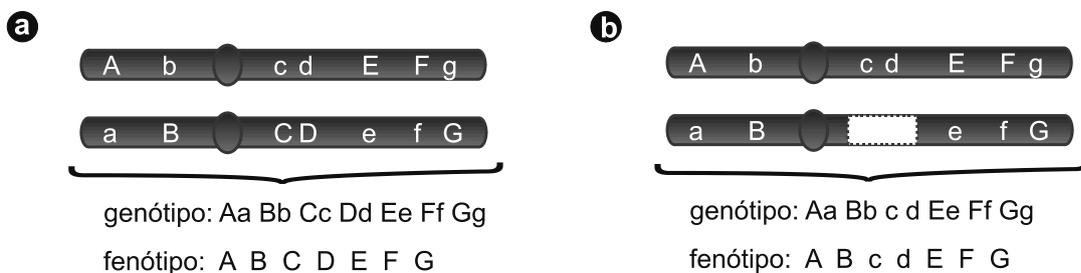
Entretanto, algumas pequenas deleções são viáveis em combinação com um homólogo normal. Se os cromossomos meióticos forem examinados em um indivíduo portador de uma deleção heterozigótica, a região da deleção poderá ser determinada pela presença de uma *alça de deleção* na região onde não ocorreu o emparelhamento (Figura 19.2). Essa falha ocorre pela ausência do segmento cromossômico correspondente ao homólogo normal.



**Figura 19.2:** Configuração em alça de uma deleção heterozigota.

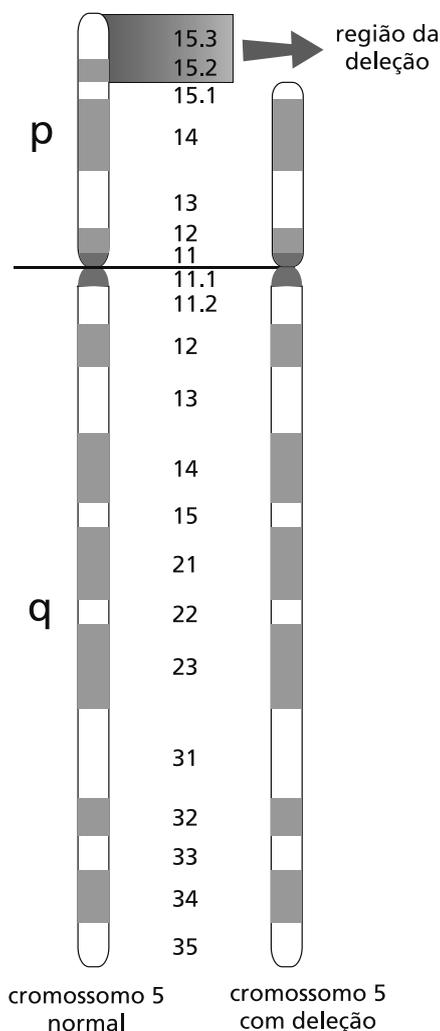
No emparelhamento meiótico, o homólogo normal forma uma alça, pois os genes não têm alelos no cromossomo homólogo mutante (portador da deleção) com os quais fazer sinapses.

A deleção de um segmento em um homólogo às vezes revela alelos recessivos presentes no outro homólogo, levando à sua expressão inesperada. Considere, por exemplo, a deleção mostrada na Figura 19.3. A expressão dos alelos *b* e *c* indicam a ocorrência de uma deleção no outro homólogo, incluindo os alelos *b*<sup>+</sup> e *c*<sup>+</sup>. Como nesses casos parece que os alelos recessivos estão apresentando dominância, o efeito é chamado *pseudodominância*. Assim, podemos utilizar um procedimento chamado *mapeamento de deleção*, em que um conjunto conhecido de deleções superpostas é usado para localizar as posições de mapa de novos alelos mutantes.



**Figura 19.3:** Deleção cromossômica. a) Genótipo, e respectivo fenótipo, de um par de cromossomos homólogos heterozigóticos para 7 genes; b) Genótipo, e respectivo fenótipo, desse mesmo par quando há perda de um segmento cromossômico. O fenótipo resultante depende dos alelos que foram perdidos e das relações de dominância e recessividade. Nesse caso, as letras maiúsculas indicam o alelo ou o fenótipo dominante, enquanto que as letras minúsculas indicam o alelo ou o fenótipo recessivo. Note que o fenótipo recessivo para os genes C e D se expressa em (b) por estar em hemizigose.

Análises clínicas freqüentemente encontram deleções nos cromossomos humanos. Na maioria dos casos, as deleções são relativamente pequenas, mas têm um efeito fenotípico adverso, ainda que em heterozigose. As deleções de regiões específicas de cromossomos humanos causam síndromes únicas de anomalias fenotípicas. Um exemplo é a síndrome do *cri du chat* (miado de gato), causada por uma deleção heterozigota perto da ponta do braço curto do cromossomo 5 (Figura 19.4). Por convenção, chama-se o braço curto de um cromossomo de braço p e o braço longo de braço q. As bandas específicas deletadas na síndrome do *cri du chat* são 5p15.2 e 5p15.3, as duas bandas mais distais identificáveis em 5p. O fenótipo mais característico na síndrome é um choro emitido pelas crianças afetadas, similar a um miado de gato. Outras manifestações são a microcefalia (cabeça anormalmente pequena), face de lua e retardo mental.

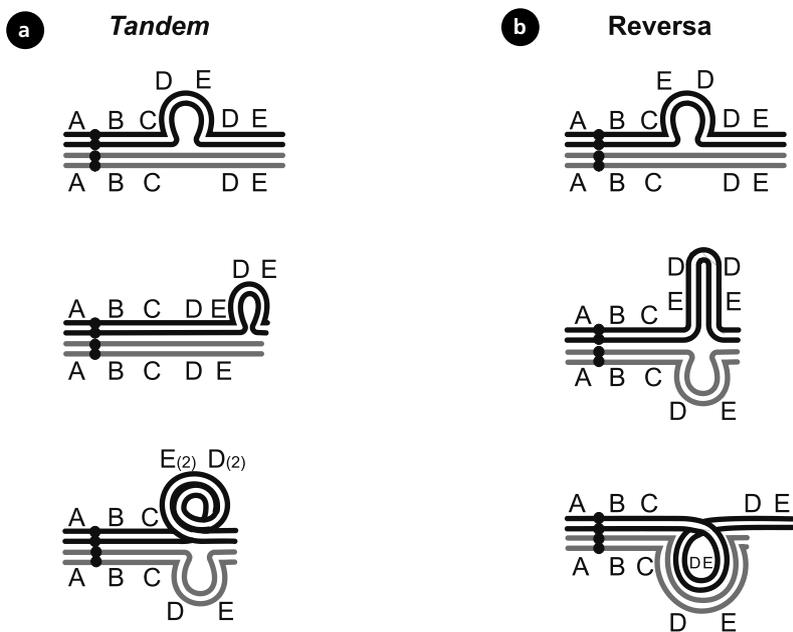


**Figura 19.4:** Representação esquemática do par de cromossomos 5 de uma pessoa com síndrome do *cri du chat*. Nesse caso, a falta das regiões cromossômicas p-15.3 e p-15.2 leva a um desbalanço gênico que causa a síndrome, independentemente dos alelos que estejam presentes no cromossomo homólogo normal.

## DUPLICAÇÕES

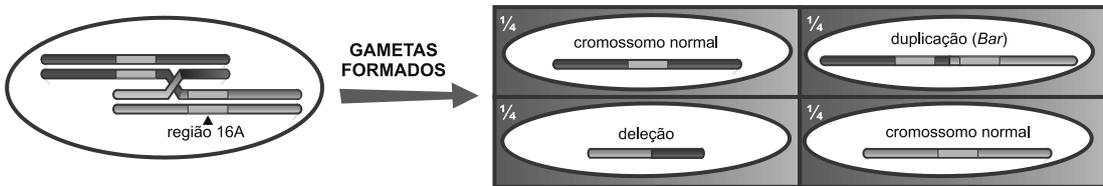
Muitas vezes, os processos de mutação cromossômica produzem uma ou mais cópias extras de alguma região do cromossomo. As regiões duplicadas podem estar situadas adjacentes uma à outra, ou podem estar em um novo local, em um par diferente do mesmo cromossomo, ou mesmo em outro cromossomo. Em um organismo diplóide, o conjunto cromossômico que contém a duplicação geralmente está presente junto a um conjunto cromossômico padrão. Esse organismo é chamado *heterozigoto para duplicação*. As células de tal organismo terão, então, três cópias da região cromossômica em questão.

Dependendo do tipo de duplicação, os heterozigotos para duplicação podem apresentar estruturas específicas durante o emparelhamento na meiose. Considerando apenas duas duplicações adjacentes, em *tandem* (seqüenciais; A B C D E D E) ou *reversas* (A B C E D D E), podemos esperar as estruturas emparelhadas mostradas na **Figura 19.5**.



**Figura 19.5:** Configurações possíveis de emparelhamento em organismos heterozigóticos para duplicação. Os segmentos duplicados podem estar em *tandem* (a) ou em ordem inversa (b).

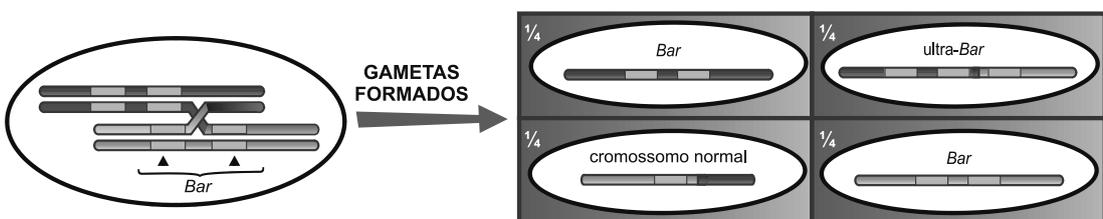
Como algumas deleções, as duplicações de algumas regiões genéticas podem produzir fenótipos específicos e agir como mutações gênicas. Vamos tomar como exemplo a mutação dominante *Bar* no cromossomo X de *Drosophila*. O fenótipo mutante é a redução do número de facetas oculares, produzindo um olho em forma de fenda em vez de oval normal. Os estudos citológicos em cromossomos politênicos mostraram que o fenótipo *Bar* é causado por uma duplicação em *tandem* da região cromossômica 16A. Provavelmente, essa duplicação surgiu de uma permuta assimétrica próxima à região 16A durante a meiose, como mostra a **Figura 19.6**. Assim, formam-se dois tipos de gametas, um contendo a deleção da região 16A e outro contendo a região 16A duplicada.



**Figura 19.6:** Esquema representando uma permuta assimétrica próxima à região 16A do cromossomo X, possível causa para a mutação *Bar*.

Os gametas contendo a deleção provavelmente morrem ou produzem zigotos inviáveis. Os gametas contendo a duplicação, entretanto, produzem uma prole *Bar*. Os machos com a duplicação *Bar* em estado hemizigoto têm olhos muito reduzidos. As fêmeas heterozigóticas com um cromossomo *Bar* e um normal têm olhos levemente reduzidos.

A evidência de que o emparelhamento assimétrico e a permuta produzem ordens maiores de duplicação vem dos estudos de fêmeas *Bar* homozigóticas. Ocasionalmente, tais fêmeas produzem prole com olhos extremamente pequenos, chamados *ultra-Bar*. Cada prole *ultra-Bar* tem três doses da região *Bar* em *tandem* resultante de uma permuta assimétrica entre os segmentos duplicados (**Figura 19.7**). Repare que, nesse caso, será produzido um cromossomo *ultra-Bar* e o outro voltará a ser normal.



**Figura 19.7:** Produção de cromossomos *ultra-Bar* por emparelhamento assimétrico seguido de permuta em uma duplicação homozigótica.

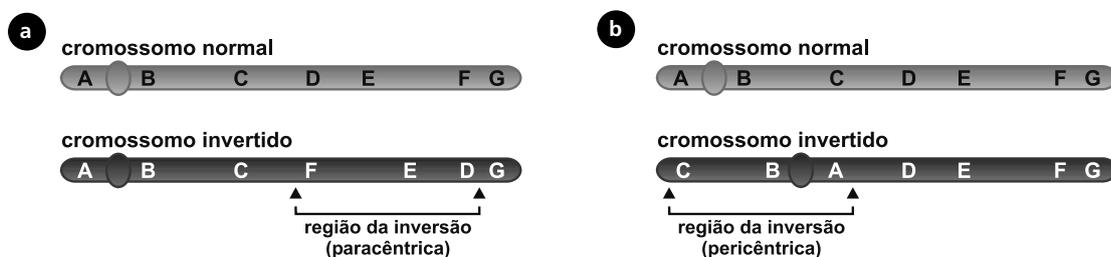
## INVERSÕES

As inversões ocorrem quando um segmento cromossômico se separa, gira 180° e se une novamente ao restante do cromossomo. Como resultado, a ordem dos genes no segmento é invertida (**Figura 19.8**). Esses rearranjos podem acontecer pela ação de agentes, como a irradiação X, que quebram os cromossomos em pedaços. Às vezes os pedaços se reúnem, mas no processo um segmento fica ao contrário, e aí ocorre uma inversão. Há também evidência de que as inversões podem ser produzidas naturalmente pela atividade de **ELEMENTOS DE TRANSPOSIÇÃO**. Durante sua movimentação, esses elementos podem quebrar um cromossomo em pedaços que, ao se reunirem, podem produzir as inversões.

Os citogeneticistas distinguem dois tipos de inversões, com base na possibilidade de o segmento invertido incluir ou não o centrômero do cromossomo. As inversões *pericêntricas* incluem o centrômero, enquanto as *paracêntricas* não. Dessa forma, as inversões pericêntricas podem mudar os comprimentos relativos dos dois braços do cromossomo, enquanto uma inversão paracêntrica não tem tal efeito. Assim, com o uso de métodos citológicos padrões, as inversões pericêntricas são muito mais fáceis de detectar que as inversões paracêntricas.

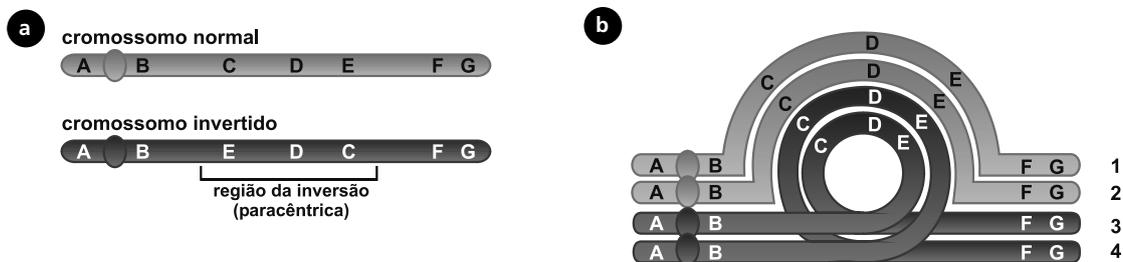
### OS ELEMENTOS DE TRANSPOSIÇÃO

Os elementos de transposição são seqüências incomuns de DNA capazes de se mover de uma posição do cromossomo para outra.



**Figura 19.8:** Exemplos de inversões cromossômicas nas quais o cromossomo é quebrado em dois pontos e o segmento entre eles é recolocado em posição invertida. a) Inversão paracêntrica (não inclui o centrômero); b) Inversão pericêntrica (inclui o centrômero).

Um indivíduo no qual um cromossomo é invertido, mas seu homólogo não, é dito heterozigoto por inversão. Durante a meiose, o cromossomo invertido e o não invertido emparelham ponto a ponto ao longo de seu comprimento. Entretanto, devido à inversão, os cromossomos devem formar uma alça para o emparelhamento na região onde seus genes estão em ordem reversa. A **Figura 19.9** mostra essa configuração, para uma inversão paracêntrica.

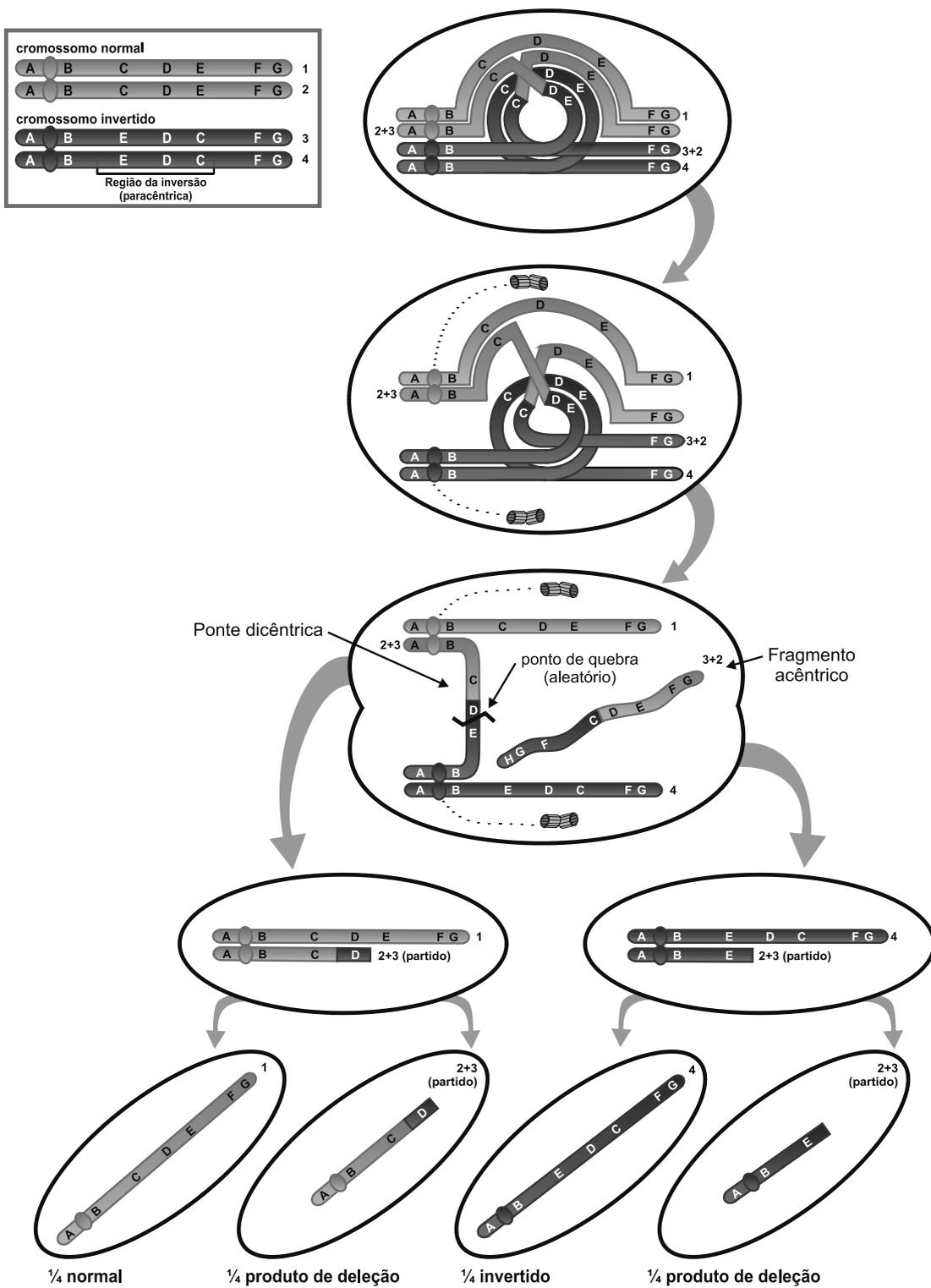


**Figura 19.9:** a) Arranjos normal e invertido para os genes em um par de cromossomos homólogos. b) Emparelhamento, durante a meiose, deste par cromossômico quando em heterozigose para a inversão paracêntrica.

Se não houver permuta entre os homólogos, um indivíduo heterozigótico para uma inversão paracêntrica produz apenas dois tipos de gametas:  $\frac{1}{2}$  dos gametas receberá o cromossomo normal e  $\frac{1}{2}$  dos gametas receberá o cromossomo mutante (com a inversão). Ficou difícil de visualizar? Desenhe a anáfase I da meiose para os cromossomos da **Figura 19.9** e siga até o final da segunda divisão meiótica. Se, mesmo assim você permanecer em dúvida, consulte a figura completa dessa meiose (**Figura 19.14**) no apêndice desta aula.

Mas, e se ocorrer permuta entre os cromossomos homólogos na região da alça de inversão? Que tipos de gametas seriam formados nesse caso? Acompanhe a **Figura 19.10**. Observe que, quando ocorre uma permuta dentro da alça de uma inversão paracêntrica, dois tipos de cromossomos recombinantes são formados: um cromossomo dicêntrico (presença de dois centrômeros) e um cromossomo acêntrico (ausência de centrômero). Deste modo, quando os cromossomos se separam durante a anáfase I, o cromossomo dicêntrico forma uma espécie “ponte”, que se rompe em um ponto aleatório ao final da primeira divisão meiótica e forma cromossomos com regiões de deleção. Por sua vez, o cromossomo acêntrico se perde, já que não pode se movimentar para nenhum dos pólos devido à ausência do centrômero, sendo degradado.

Assim, os gametas balanceados formados por estes indivíduos apresentam um dos arranjos parentais: normal ou invertido. Os gametas resultantes de recombinação na região invertida são, em geral, inviáveis.



**Figura 19.10:** Exemplo de possíveis gametas formados por uma célula meiótica de um indivíduo heterozigótico para uma inversão paracêntrica, quando ocorre uma permuta dentro da alça de inversão.

Agora, imagine que tipos de gametas seriam formados por um indivíduo heterozigótico para uma inversão pericêntrica, quando ocorre uma permuta dentro da alça de inversão? Para facilitar, esquematize a meiose de uma célula deste indivíduo e compare seu esquema com a **Figura 19.15**, no apêndice dessa aula.

## TRANSLOCAÇÕES

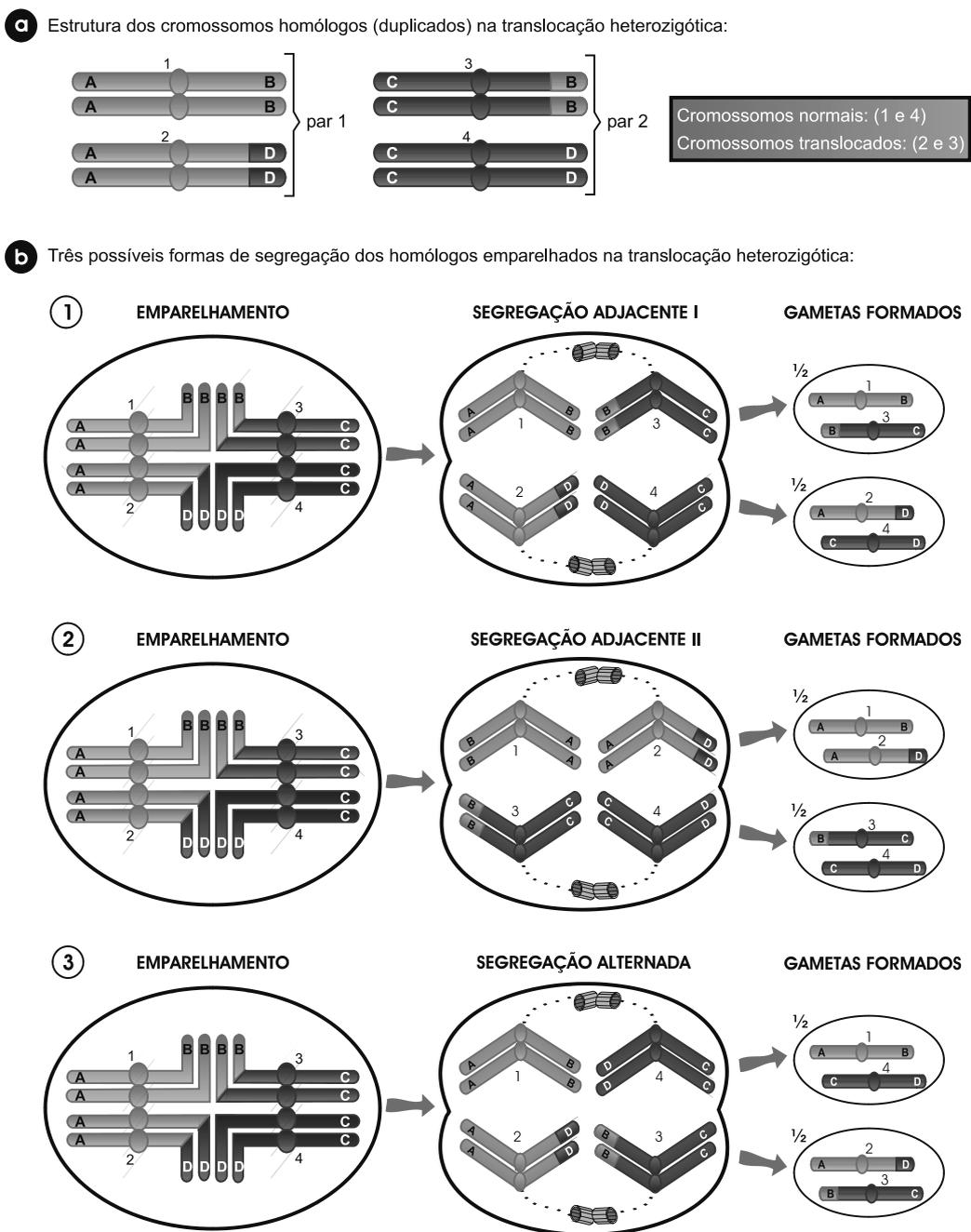
As translocações ocorrem quando um segmento de um cromossomo é destacado e religado em um cromossomo diferente (que não é o seu homólogo). O significado genético é que os genes de um cromossomo são transferidos para outro e suas relações de ligação são alteradas. As translocações podem ser induzidas por raios X, que podem quebrar dois cromossomos simultaneamente. Ocasionalmente, os segmentos quebrados são rearranjados com a fusão de segmentos de cromossomos diferentes. Outros fatores, como os elementos de transposição e rompimento mecânico, também podem estar envolvidos na produção de translocações.

Quando trechos de dois cromossomos não-homólogos são intercambiados sem perda de material genético, o evento é chamado de **translocação recíproca** (**Figura 19.11a**). Um outro tipo de translocação, denominada **transposição**, ocorre quando a transferência é unilateral. Ou seja, um segmento de um cromossomo passa para outro não-homólogo. Finalmente, pode haver transferência entre braços completos de cromossomos não-homólogos, evento denominado **translocação Robertsoniana**.

Durante a meiose, como o emparelhamento dos cromossomos ocorre gene a gene, os cromossomos translocados emparelham com seus homólogos não-translocados, gerando padrões característicos. Veja na **Figura 19.11b** o emparelhamento dos cromossomos em um indivíduo heterozigótico para uma translocação recíproca.

Note que, o emparelhamento em forma de cruz envolve quatro centrômeros que podem, ou não, serem distribuídos corretamente para os pólos opostos da célula durante a meiose I. Assim, a disjunção cromossômica nos indivíduos heterozigóticos para translocações é um processo um tanto incerto, que pode gerar gametas com deleção e/ou duplicação gênica. Existem três possíveis eventos de disjunção, ilustrados na **Figura 19.11b**.

As células nas quais os cromossomos translocados estão em homozigose não formam um padrão cruciforme, pois cada cromossomo translocado emparelha perfeitamente com seu parceiro estruturalmente idêntico (Figura 19.10.c).

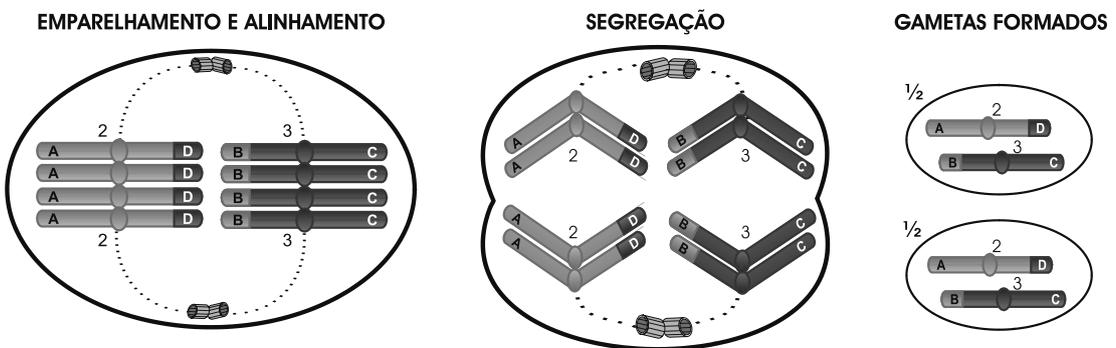


**Figura 19.11:** Estrutura de uma translocação recíproca (a). Emparelhamento e possíveis padrões de disjunção em um indivíduo heterozigótico para translocação recíproca (b). Apenas uma forma de emparelhamento é possível, embora os cromossomos emparelhados possam segregar de modos diferentes (b1, b2 ou b3), produzindo diferentes tipos de gametas. Ao tentar interpretar os esquemas, lembre-se que estes são desenhos bidimensionais e simplificados, e que a célula é uma estrutura tridimensional. Estes esquemas também não incluem possíveis permutas entre os homólogos.

Se os centrômeros 2 e 4 se moverem para o mesmo pólo, enquanto 1 e 3 para o pólo oposto, todos os gametas resultantes apresentarão duplicação e deleção gênica, porque alguns segmentos cromossômicos serão deficientes em genes e outros serão duplicados (Figura 19.11.b1). Do mesmo modo, se os centrômeros 1 e 2 se moverem para um pólo e 3 e 4 para o outro, serão produzidos apenas gametas com cromossomos mutantes (Figura 19.11.b2). Cada um desses casos é chamado de *disjunção adjacente*, porque os centrômeros próximos um do outro no padrão cruciforme movem-se para o mesmo pólo. Uma outra possibilidade é que os centrômeros 1 e 4 se movam para o mesmo pólo, enquanto 2 e 3 para o pólo oposto. Esse caso, chamado *disjunção alternada*, produz apenas gametas ditos balanceados contendo conjuntos completos de genes em seus cromossomos, embora metade deles carregue cromossomos translocados (Figura 19.11.b3).

A produção de gametas mutantes por disjunção adjacente explica por que indivíduos portadores de translocações heterozigóticas têm fertilidade reduzida. Quando esses gametas fertilizam um gameta normal, o zigoto formado não será geneticamente balanceado e, portanto, dificilmente sobreviverá (dependendo da importância dos genes que foram deletados ou duplicados para a viabilidade do organismo).

As células nas quais os cromossomos translocados estão em homozigose não formam um padrão cruciforme, pois cada cromossomo translocado emparelha perfeitamente com seu homólogo estruturalmente idêntico (Figura 19.12).



**Figura 19.12:** Estrutura e comportamento do emparelhamento de uma translocação recíproca entre cromossomos, em um indivíduo homocigoto para esta translocação. Note que, neste caso, o emparelhamento não apresenta o padrão cruciforme da célula heterozigótica para translocação e todos os gametas formados são balanceados. Isso é, possuem todo o genoma haplóide, embora com uma nova reorganização.

### CROMOSSOMOS COMPOSTOS

Às vezes um cromossomo liga ao seu homólogo, ou duas cromátides-irmãs tornam-se ligadas uma à outra, formando uma unidade genética, chamada cromossomo composto.

**Os cromossomos compostos diferem das translocações por envolverem fusões de segmentos de cromossomos homólogos. As translocações, por contraste, sempre envolvem fusões entre cromossomos não-homólogos.**

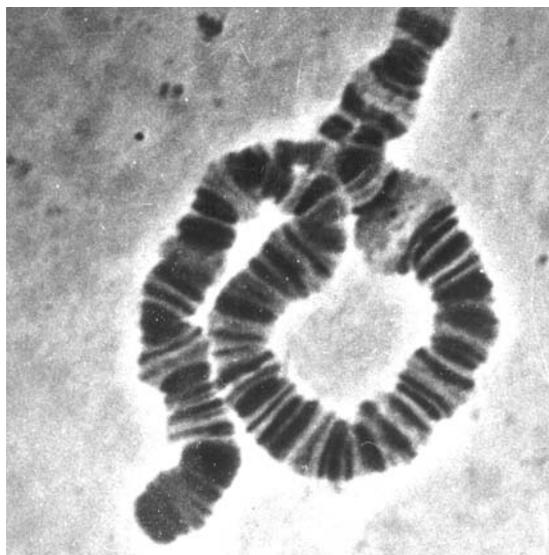
## OS CROMOSSOMOS GIGANTES E A VISUALIZAÇÃO DAS MUTAÇÕES ESTRUTURAIS

Em alguns organismos, certos tecidos tornam-se poliplóides durante o desenvolvimento. Esta poliploidização é provavelmente uma resposta à necessidade de múltiplas cópias de cada cromossomo e dos genes que ele carrega. O processo que produz essas células poliplóides envolve a duplicação cromossômica, seguida da separação das cromátides-irmãs resultantes. Entretanto, como não há a divisão celular, acumulam-se conjuntos de cromossomos dentro de um único núcleo. Em seres humanos, por exemplo, esse processo gera células tetraplóides no fígado e nos rins.

Em alguns casos, a poliploidização ocorre sem a separação das cromátides-irmãs. Dessa forma, os cromossomos duplicados se acumulam próximos uns aos outros, formando um feixe de filamentos alinhados lado a lado. Os cromossomos resultantes são ditos politênicos, do grego “muitos filamentos”. Os exemplos mais conhecidos de cromossomos politênicos são os encontrados nas glândulas salivares de larvas de *Drosophila*. Cada cromossomo sofre várias rodadas de replicação, produzindo centenas de cromátides. Todas as cromátides se emparelham firmemente, formando um feixe de fibras de cromatina. Esse feixe é tão grande que pode ser visto sob pequeno aumento em um microscópio óptico.

A helicoidização diferencial ao longo do comprimento do feixe causa variações na densidade da cromatina. Quando os corantes são aplicados a esses cromossomos, a cromatina mais densa se cora mais fortemente, criando um padrão de bandas escuras e claras. Esse padrão é altamente reproduzível, permitindo uma análise detalhada da sua estrutura cromossômica. Na maioria dos organismos, as alças de deleção e de inversão na meiose são difíceis de se observar porque os cromossomos são muito pequenos.

Uma análise detalhada é praticamente impossível. Entretanto, a configuração em alça é facilmente vista nos cromossomos politênicos (Figura 19.13). Devido ao padrão de bandejamento, a região em alça pode ser facilmente identificada e, em alguns casos, até mesmo os pontos terminais de uma inversão podem ser precisamente determinados.



**Figura 19.13:** Visualização de uma alça de inversão no emparelhamento de cromossomos politênicos de *Drosophila*. Foto cedida por Louis Bernard Klaczko.

### EFEITOS FENOTÍPICOS DOS REARRANJOS CROMOSSÔMICOS

Na condição homozigota, as deleções que removem vários genes são quase sempre letais porque, provavelmente, alguns dos genes ausentes serão essenciais à vida. As duplicações, ao contrário, podem ser viáveis na condição homozigota, desde que não sejam muito grandes.

Na condição heterozigota, tanto as deleções como as duplicações podem afetar o fenótipo, alterando a dosagem de grupos de genes. Em geral, quanto maior o segmento cromossômico envolvido, maior o efeito fenotípico. Entretanto, em alguns casos, mesmo pequenas deleções ou duplicações podem ter efeito letal na condição heterozigota, indicando que essa região contém pelo menos um gene com uma exigência estrita de dosagem apropriada.

As inversões e translocações também podem afetar o fenótipo. Às vezes os pontos de quebra desses rearranjos rompem genes, tornando-os mutantes. Quando os rearranjos se tornam homozigotos, aparece o fenótipo mutante. Em outros casos, os pontos de quebra não são em si perturbadores, mas os genes próximos a eles são colocados em um ambiente cromossômico diferente, onde podem não funcionar

normalmente. Os rearranjos cromossômicos também podem mudar o modo pelo qual é regulada a expressão de um determinado gene. A expressão imprópria de um gene pode fazer, por exemplo, com que as células se tornem cancerosas.

## O CÂNCER

A descoberta das técnicas de bandeamento de alta resolução, as melhorias técnicas na cultura de células cancerosas, a descoberta de oncogenes (genes que podem desencadear uma proliferação celular excessiva), assim como a aplicação de técnicas de hibridação *in situ* e outras técnicas de Biologia Molecular tornaram possíveis novos esclarecimentos quanto à possível relação entre certas aberrações cromossômicas e o câncer (**Tabela 19.1**).

As aberrações cromossômicas mais freqüentemente observadas em leucemias e linfomas (cânceres que afetam as células do sangue e do sistema imune, respectivamente) são as translocações recíprocas, enquanto em tumores sólidos são mais freqüentes as deficiências e eventualmente trissomias de um cromossomo específico.

Aparentemente, a presença de rearranjos cromossômicos, como as translocações recíprocas envolvendo oncogenes, poderia levar à ativação do câncer por dois mecanismos distintos:

- a) pela constituição de genes quiméricos devido à translocação, que podem resultar em um produto com propriedades transformantes, como na leucemia mielóide crônica; ou
- b) pela transposição de um oncogene, devido à translocação, para um domínio ativo de cromatina, levando a expressão desse gene a níveis anormalmente altos em um tecido onde normalmente não se expressaria, como é o caso do gene *c-myc* no linfoma de Burkitt.

Na tabela a seguir estão reunidas algumas neoplasias associadas às suas respectivas alterações cromossômicas:

**Tabela 19.1:** Neoplasias associadas às suas respectivas alterações cromossômicas.

DOENÇA		ONCOGENE	ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS	
LEUCEMIAS	Leucemia mielóide crônica		<i>BCR-abl</i> t(9;22)(q34;q11) (90-95% dos casos)	
	Leucemia não linfocítica aguda	M1	<i>BCR-abl</i>	t(9;22)(q34;q11) (10-15% dos casos)
		M2		t(8;21)
		M3	rec.ac.retin.	t(15;17)(q22;q11)
		M4		inv(16)
		M4,M5		t(9;11)
		M1,M2,M4, M5,M6		del 5q del 7q +8 +12
	Leucemia linfocítica crônica		<i>bcl-1</i>	t(11;14)(q13;q32) (10-30% dos casos)
	Leucemia linfocítica aguda	L1-L2		t(9;22)(q34;q11.2)
		L2		t(4;11)(q21.1;q23)
L3			t(8;14)(q24.1;q32.3)	
LINFOMAS	Burkitt		<i>c-myc</i> t(8;14)(q24;q32) (80% dos casos)	
	Folicular		<i>bcl-2</i> t(14;18)(q32;q21)	
CARCINOMAS	Neuroblastoma		del(1)(p32;p36)	
	Células pequenas de pulmão		del 3p	
	Ovário		t(6;14)(q21;q24)	
	Retinoblastoma constitucional		del(13)(q14)	
	Aniridia e tumor de Wilms		del(11)(p13)	
TUMORES SÓLIDOS BENIGNOS	Glândula parótida		t(3;8)	
	Meningioma		-22	

**RESUMO**

Os rearranjos cromossômicos podem mudar a posição de um segmento dentro de um cromossomo ou podem juntar segmentos de cromossomos diferentes. Em ambos os casos, a organização dos genes é alterada. Além disso, podemos ter a perda ou duplicação de um segmento cromossômico.

As deleções consistem na simples perda de um segmento cromossômico. Já as duplicações consistem na presença de duas ou mais cópias de uma região cromossômica. As inversões envolvem uma mudança na orientação de um segmento dentro de um cromossomo. Por sua vez, as translocações envolvem a troca ou fusão de segmentos de cromossomos diferentes.

Na maioria dos organismos, as alças de deleção e de inversão são difíceis de se observar porque os cromossomos são muito pequenos. Entretanto, a configuração em alça é facilmente observada nos cromossomos politênicos.

**EXERCÍCIOS**

1. Complete as frases de 1 a 8 com as alternativas abaixo:

- |                           |                           |
|---------------------------|---------------------------|
| (a) inversão cromossômica | (b) inversão pericêntrica |
| (c) inversão paracêntrica | (d) mutação cromossômica  |
| (e) agente mutagênico     | (f) mutação reversa       |
| (g) mutação somática      | (h) mutação germinal      |

- 1) Dá-se o nome de ( ) a qualquer alteração permanente na constituição cromossômica de um organismo.
- 2) Uma substância química ou um fator físico (por exemplo: raios X, luz ultravioleta etc.) capaz de alterar o material hereditário é chamado ( ).
- 3) Um rearranjo intracromossômico que resulta na rotação de 180° de um segmento cromossômico é chamado ( ).
- 4) Quando o centrômero está incluído em um segmento cromossômico invertido, fala-se em ( ).
- 5) Quando o centrômero está fora da região invertida, fala-se em ( ).
- 6) Uma alteração hereditária em um alelo mutante que restabelece a condição selvagem é denominada ( ).

7) ( ) é uma mutação que ocorre em células que não irão originar gametas ou esporos.

8) ( ) é uma mutação que ocorre em células que irão originar gametas ou esporos.

2. Suponha que os seguintes *loci* em *Drosophila* estão ligados na ordem *a-b-c-d-e-f*. Uma mosca com o genótipo *a b c d e f / a b c d e f* é cruzada com um tipo selvagem. Cerca de metade da prole é de fenótipo totalmente selvagem, mas a outra metade apresenta o fenótipo recessivo correspondente *d* e *e*. Proponha uma explicação para estes resultados.

3. Em cromossomos politênicos de *Drosophila* as bandas têm as seguintes seqüências: (a) 1, 2, 5, 6, 7, 8; (b) 1, 2, 3, 4, 4, 5, 6, 7, 8; (c) 1, 2, 3, 4, 5, 8, 7, 6. Que tipo de mudança cromossômica está presente em cada cromossomo? Esquematize como estes cromossomos se emparelham com um cromossomo cuja seqüência é 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8.

4. Um cromossomo em uma planta tem uma seqüência  $A * B C D E F$  e outro tem a seqüência  $M N * O P Q R$ . Uma translocação recíproca entre esses cromossomos produz os seguintes arranjos:  $A * B C P Q R$  em um cromossomo e  $M N * O D E F$  em outro. Esquematize como estes cromossomos translocados se emparelham com seus homólogos normais durante a meiose em um indivíduo heterozigótico para esta translocação (\* indica a posição do centrômero).

5. Suponha uma petúnia heterozigótica, com a seguinte distribuição de genes em um par de cromossomos homólogos  $A*BCDEFGHI / a*bcdhgf ei$  (\* representa o centrômero).

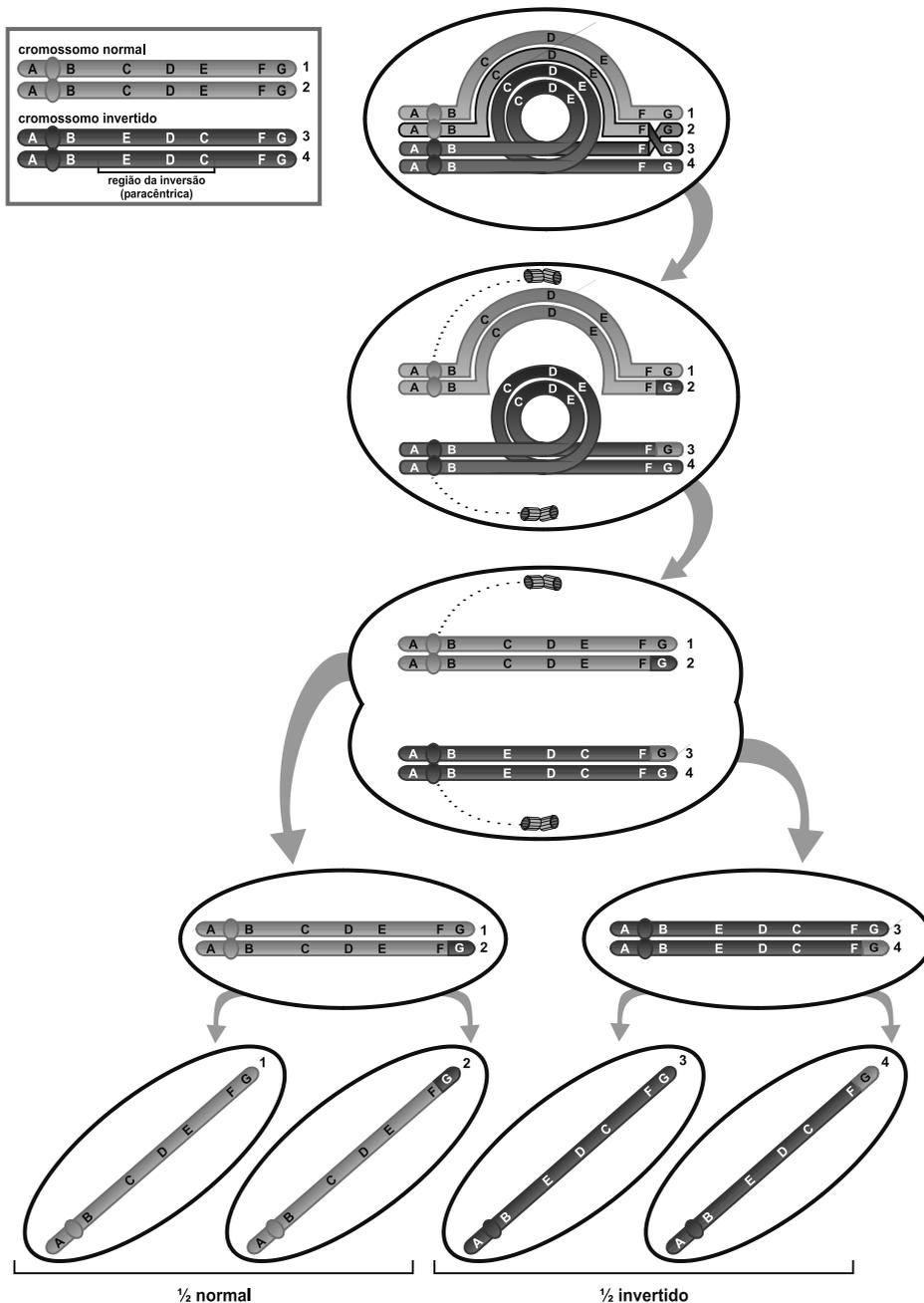
a. Que tipo de mutação cromossômica pode ser observada nesse par de homólogos? Leve em consideração o posicionamento do centrômero.

b. Esquematize o emparelhamento desse par de cromossomos na prófase I da meiose. Identifique as partes do seu diagrama.

c. Identifique as cromátides de um cromossomo como 1 e 2 e as cromátides de seu homólogo como 3 e 4. Considere a ocorrência de uma permutação entre os locos G e H das cromátides 2 e 3 e faça o esquema dos resultados destas permutações na anáfase I. Quais os genótipos dos gametas, resultantes desta meiose, que dariam origem a descendentes viáveis?

APÊNDICE:

Acompanhe as figuras que mostram o comportamento dos cromossomos durante a meiose em um indivíduo heterozigótico para uma inversão paracêntrica (**Figura 19.14**) e em um indivíduo heterozigótico para uma inversão pericêntrica, quando ocorre permuta na alça de inversão (**Figura 19.15**). Compare com os esquemas que você desenvolveu:



**Figura 19.14:** Exemplo de possíveis gametas formados por uma célula meiótica de um indivíduo heterozigótico para uma inversão paracêntrica, sem a ocorrência de permuta na região invertida.

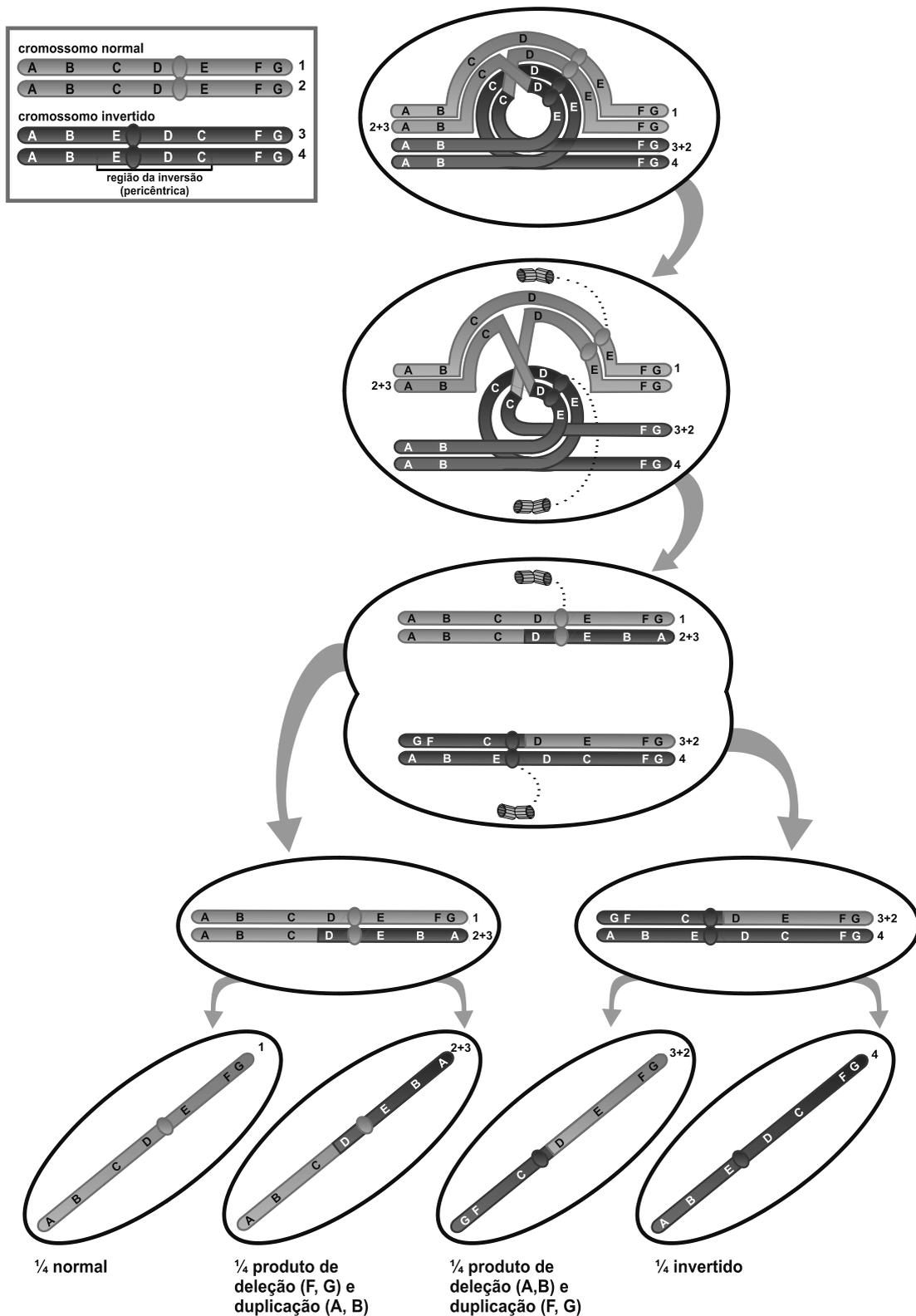


Figura 19.15: Exemplos de possíveis gametas formados por uma célula meiótica de um indivíduo heterozigótico para uma inversão pericêntrica, quando ocorre uma permuta dentro da alça de inversão.

**Prática de observação de cromossomos politênicos em larvas de *Drosophila***

AULA

20

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

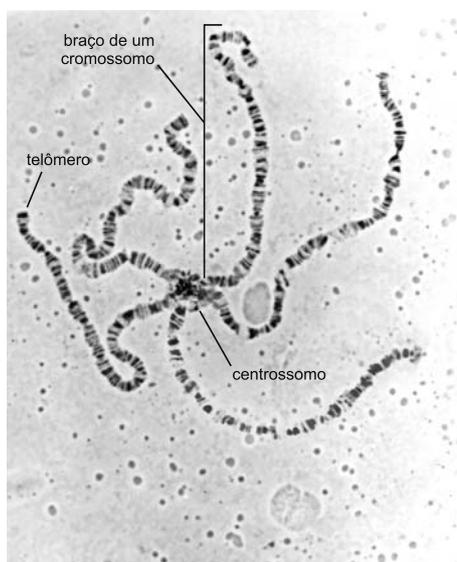
- Observar as características dos cromossomos politênicos.
- Observar o emparelhamento dos cromossomos homólogos em indivíduos homocigóticos e heterocigóticos para diferentes arranjos cromossômicos.

Em 1918, Balbiani, estudando o núcleo das células das glândulas salivares de larvas de Dípteros (moscas e mosquitos), encontrou estruturas muito grandes em forma de bastão e em número igual ao conjunto haplóide de cromossomos da espécie. No entanto, essas estruturas não se pareciam com os cromossomos comumente visualizados nas divisões celulares. Apenas em 1933, Heitz & Bauer e Painter descobriram, através de estudos independentes, que essas estruturas consistiam de cromossomos homólogos em múltiplas cópias e emparelhados – os cromossomos politênicos.

Os cromossomos gigantes ou politênicos possuem dimensões fora dos padrões normais. Suas grandes dimensões são o resultado de duplicações sucessivas das cromátides e do emparelhamento dos cromossomos homólogos sem que ocorra posterior divisão celular. Assim, além de um grande aumento na largura, cada politênico pode ter mais de mil cromátides. Os cromossomos politênicos também são muito longos em relação aos metafásicos, pois estão pouco condensados. Quando corados, esses cromossomos apresentam faixas transversais escuras, intercaladas

com interfaixas mais claras. Esse padrão de bandas é característico de cada cromossomo e, como nas preparações dos cromossomos mitóticos, é usado para sua identificação e classificação. Em algumas espécies, os cromossomos politênicos, presentes no núcleo de cada célula, apresentam ainda a característica de se manterem unidos pelos centrômeros, formando a região chamada de centrossomo (Figura 20.1).

A análise dos padrões de bandas também permite a visualização de mutações cromossômicas estruturais, como duplicações, deleções, translocações e inversões, além de ajudar a elucidar uma série de questões relacionadas à localização e à ordem dos genes nos cromossomos.



**Figura 20.1:** a) União dos cromossomos politênicos de *Drosophila mediopunctata* formando o centrossomo. Observe as estruturas indicadas. Foto cedida por Louis Bernard Klaczko.

Quando os genes entram em atividade, os filamentos cromossômicos se expandem devido ao relaxamento da condensação da molécula do DNA. Com isso, pode-se observar um inchaço na região correspondente à posição do gene, chamado pufe. Os puffes correspondem, então, às regiões do cromossomo onde os genes estão em grande atividade, ou seja, transcrevendo o RNA. Acredita-se que o tamanho exagerado dos politênicos tenha a função de suprir as células da larva com material genético suficiente para comandar a produção de uma grande quantidade de enzimas digestivas.

Nesta aula prática, observaremos os cromossomos politênicos das glândulas salivares em uma espécie de *Drosophila*, a *D. mediopunctata*. Na população natural, essa espécie possui um polimorfismo de inversões no cromossomo X. Ou seja, os cromossomos X da população de *D. mediopunctata* podem apresentar regiões em que os genes estão em uma seqüência invertida. Veremos, assim, como a análise dos cromossomos politênicos pode ser útil para identificar os cromossomos de uma espécie e também suas possíveis mutações.

Para observar os cromossomos politênicos, você e seu grupo precisarão do seguinte material:

- Larvas de *Drosophila*
- Microscópio
- Microscópio estereoscópico (lupa)
- Pinças de relojoeiro nº 5
- Lâminas
- Lamínulas
- Pipetas
- Soro fisiológico
- Ácido acético 45% ou ácido clorídrico 1N
- Orceína acética (adicionar 2g de orceína a 100ml de ácido acético 60% e aquecer em banho-maria por 2 horas. Adicionar 100ml de ácido láctico 85% e filtrar em papel).

Os procedimentos para a observação podem ser divididos em etapas. Acompanhe:

### AS LINHAGENS A SEREM ANALISADAS

Você receberá uma garrafa contendo uma cultura de *Drosophila mediopunctata*. Verifique a linhagem que seu grupo recebeu, pois serão distribuídas três linhagens diferentes: a) a linhagem ST apresenta o cromossomo X com a ordem dos genes que consideramos a ordem normal; b) a linhagem SR apresenta o cromossomo X com a ordem dos genes invertida; c) a linhagem SR/ST, fruto do cruzamento entre essas duas primeiras linhagens. Logo, você concluirá que todas as fêmeas da linhagem ST/SR são heterozigóticas, apresentando um dos cromossomos X com o arranjo ST e o outro com o arranjo SR.

### A PREPARAÇÃO DOS CROMOSSOMOS POLITÊNICOS

Prepare a lâmina, colocando uma gota de soro fisiológico no canto superior esquerdo e uma gota do ácido (clorídrico ou acético) no canto inferior esquerdo, conforme o esquema a seguir (Figura 20.2). Antes de colocar a orceína acética é necessário utilizar alguma substância oleosa que delimite o corante, para que este não se espalhe pela lâmina. Podemos utilizar a própria secreção oleosa produzida pelo corpo, pressionando o centro da lâmina com o polegar, como numa impressão digital. Em seguida, coloque a orceína por cima, cobrindo a impressão.

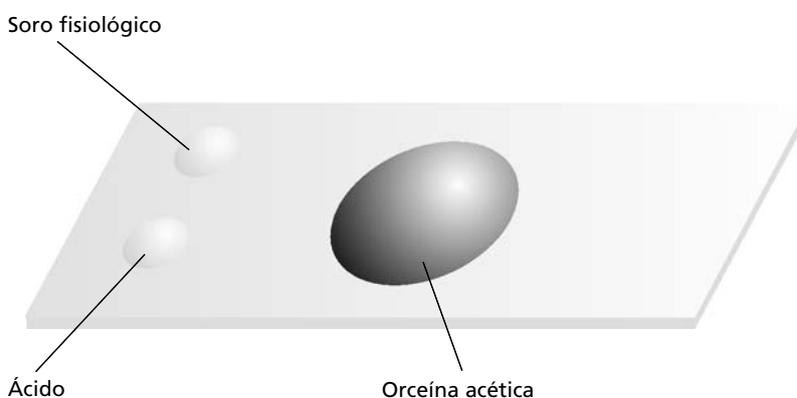


Figura 20.2: Esquema de uma lâmina preparada para receber a glândula salivar da drosófila.

Separe uma larva que esteja no seu último estágio de desenvolvimento (pouco antes de se tornar uma pupa). Uma maneira de identificar as larvas apropriadas é utilizar aquelas que se encontram na parede do recipiente de cultura.

Disseque a larva em soro fisiológico, segurando a mandíbula com uma das pinças e, com a outra, segure próximo ao 4º segmento. Puxe, em sentidos opostos, até a larva arrebentar e o tubo digestivo ficar exposto.

Separe as glândulas salivares do resto do corpo. Observe na **Figura 20.3** as glândulas marcadas com um círculo. Quando dissecada em solução salina, a glândula apresentará um aspecto brilhante e transparente.

Após a separação, mergulhe as glândulas no ácido por, aproximadamente, 30 segundos. Essa etapa é realizada para fixar as células a serem analisadas.

Coloque as glândulas no corante orceína acética e deixe por 20 a 30 minutos. Sugerimos que seja realizado um teste prévio para a identificação do tempo necessário à ação do corante. Observe os núcleos sendo corados através do microscópio estereoscópico.

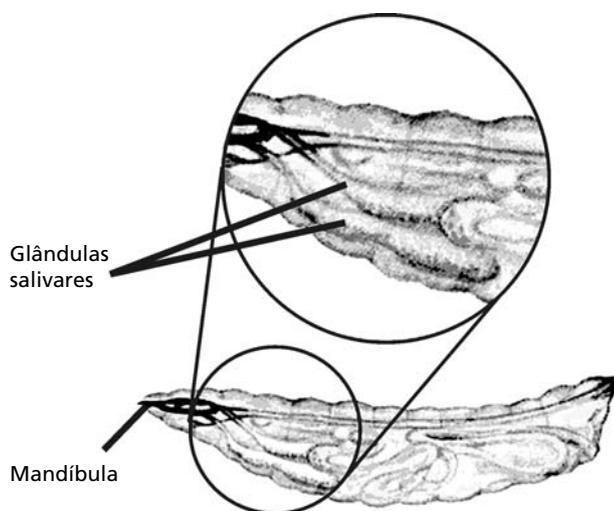
Coloque a lamínula em cima das glândulas. Nesse momento, você poderá observar o rompimento das células. Gire a lamínula, com uma tampa de caneta, por três ou quatro vezes, para que os cromossomos se espalhem pela lâmina.

A última etapa, chamada de *squash*, consiste em pressionar a lamínula contra a lâmina com o polegar. Isso deve ser feito com o auxílio de um papel-toalha e servirá para fixar os cromossomos na lâmina. Atenção: não use muita força para que os cromossomos não se quebrem.

Observe as lâminas no microscópio, tentando localizar os cromossomos. Caso queira, conserve a lâmina por mais tempo. Nesse caso, aconselhamos selar as bordas da lamínula com esmalte e guardá-las na geladeira.

## OBSERVANDO OS CROMOSSOMOS POLITÊNICOS

Leve sua lâmina ao microscópio e, comece a operá-lo com o menor aumento, procurando um campo onde os cromossomos politênicos estejam íntegros, mas bem espalhados.



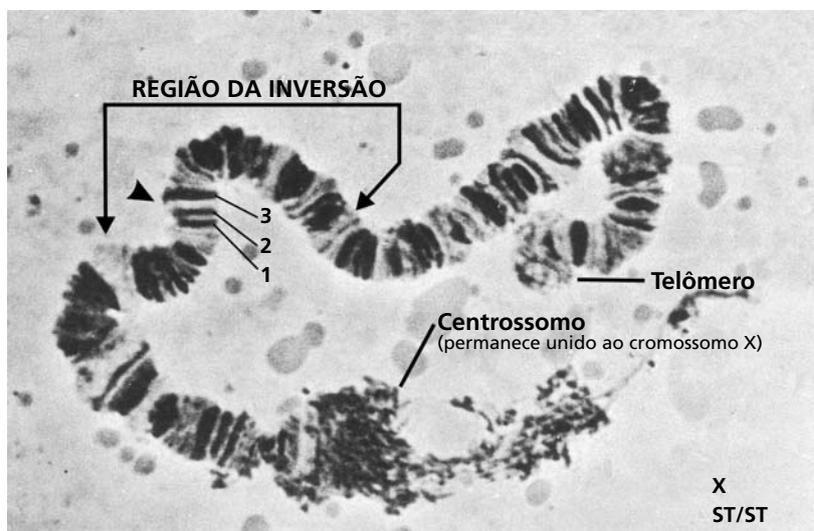
**Figura 20.3:** Esquema de uma larva de drosófila com destaque para as glândulas salivares.

Passe para um aumento maior e observe os cromossomos mais detalhadamente. Você verá uma série deles. Observe que os padrões de banda diferem entre os cromossomos. Lembre-se: no caso dos politênicos, os homólogos estão emparelhados, e, assim, cada uma das estruturas contém os dois cromossomos.

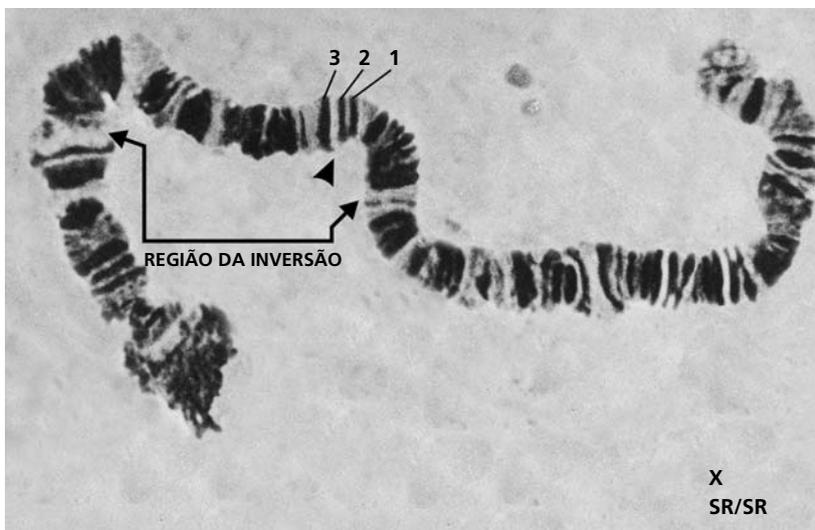
Vamos agora identificar o cromossomo X. Nessa espécie será fácil, pois o cromossomo X apresenta uma estrutura globular em uma de suas extremidades. Isso ocorre porque, como vimos, durante a politenização todos os cromossomos da célula podem ficar ligados pelos seus centrômeros (Figura 20.1). Em *D. mediopunctata*, quando preparamos a lâmina para visualização dos politênicos, essa ligação se quebra e o centrossomo fica associado ao cromossomo X.

Então, identificaram o cromossomo X de *D. mediopunctata*? Confira a partir da Figura 20.4.

Agora vamos olhar esse cromossomo com mais cuidado. Observaremos o padrão de bandas apresentado em cada uma das linhagens que a turma recebeu. Procure identificar as bandas apontadas na Figura 20.4. Note que há uma região invertida quando comparamos o padrão de bandas do cromossomo X da linhagem ST (Figura 20.4) com o da linhagem SR, (Figura 20.5)

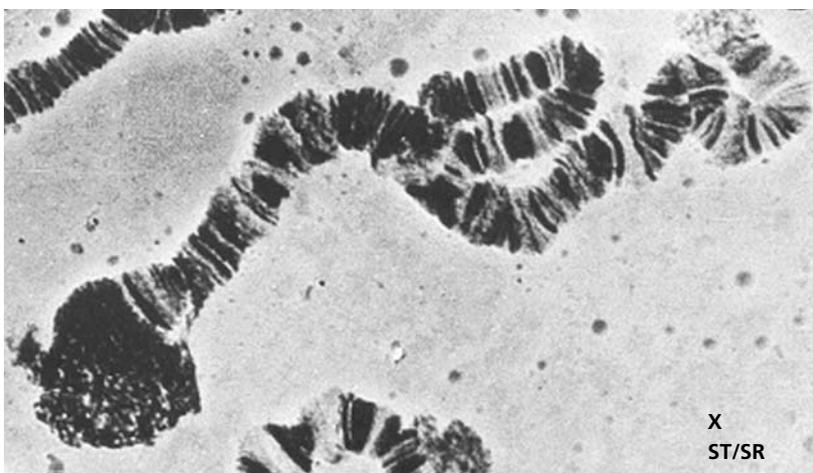


**Figura 20.4:** Cromossomo X politênico de um indivíduo da espécie *Drosophila mediopunctata* homozigótico para o arranjo do tipo ST. As setas longas indicam os pontos onde ocorrem as quebras que resultam em arranjos invertidos conhecidos, como o arranjo SR. A seta curta indica uma região onde o padrão de bandas é utilizado para identificação do tipo de arranjo cromossômico. Preste atenção nas bandas 1, 2 e 3, diagnósticas da inversão no arranjo SR (veja a Figura 20.5). Foto cedida por Louis Bernard Klaczko.



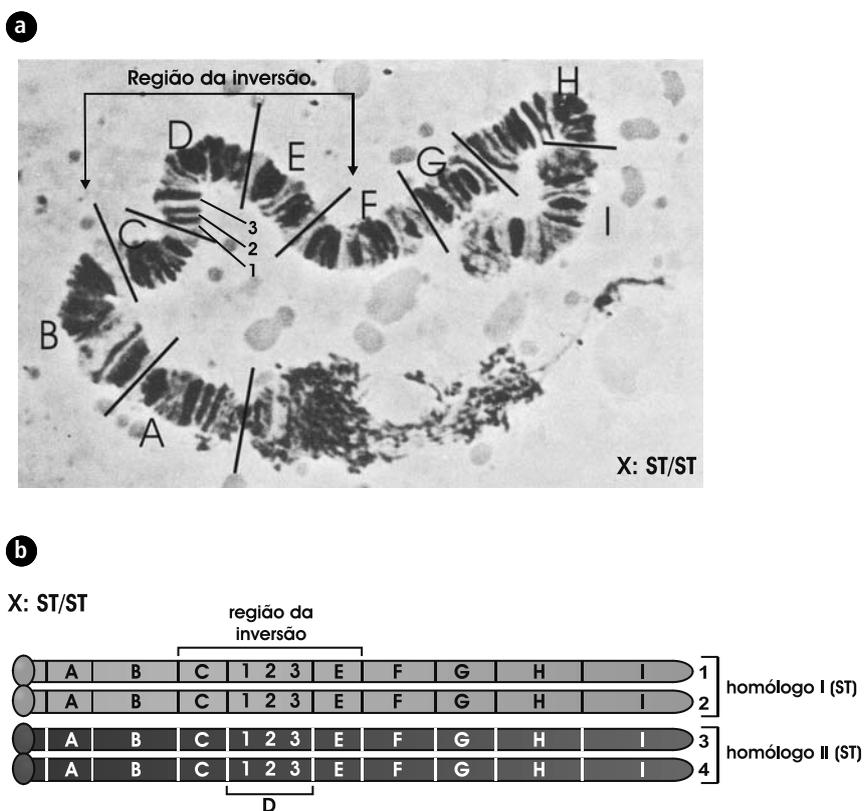
**Figura 20.5:** Cromossomo X politênico de *Drosophila mediopunctata* mostrando o padrão de bandas do arranjo homozigótico SR/SR (adaptado de foto cedida por Louis Bernard Klaczko). As setas longas indicam onde ocorreram as quebras que resultaram na inversão. A seta curta indica uma região onde o padrão de bandas é diagnóstico. Observe que o posicionamento das bandas 1, 2 e 3, diagnósticas da inversão, está invertido em relação ao posicionamento destas mesmas bandas no arranjo ST/ST (Figura 20.4).

Agora, o mais legal! Observe o que acontece quando há o emparelhamento dos homólogos nas fêmeas heterozigóticas SR/ST (Figura 20.6). Veja que ocorre a formação de uma alça de inversão paracêntrica durante o emparelhamento dos homólogos. Essa é uma oportunidade de observar na prática um dos fenômenos que você estudou na Aula 19 (reveja o conceito de inversão e a Figura 19.9). Agora, tente identificar as bandas 1, 2 e 3 observadas nos arranjos ST/ST e SR/SR.



**Figura 20.6:** Cromossomo X politênico de um indivíduo da espécie *Drosophila mediopunctata* heterozigótico para os arranjos dos tipos ST e SR. Note a formação da alça de inversão durante o emparelhamento dos homólogos. Tente identificar as bandas 1, 2 e 3 observadas nos arranjos ST/ST (Figura 20.4) e SR/SR (Figura 20.5). Foto cedida por Louis Bernard Klaczko.

Para finalizar, discuta com seus colegas e tutores as observações que você fez. Faça também esquemas do emparelhamento dos homólogos nas linhagens SR/SR e ST/SR, usando o padrão do esquema da linhagem ST/ST apresentado na Figura 20.7 para representar as regiões do cromossomo X de *D. mediopunctata*. Leve em consideração que as regiões C, D e E fazem parte da inversão no arranjo SR. Não se esqueça de incluir em seus esquemas as bandas 1, 2 e 3 da região D.



**Figura 20.7:** Cromossomos X politênico de um indivíduo da espécie *Drosophila mediopunctata* homocigótico para o arranjo do tipo ST. a) As regiões do cromossomo estão identificadas pelas letras de A a I. b) Esquema do emparelhamento dos homólogos para o arranjo ST/ST; para facilitar, as cromátides estão duplicadas como em uma meiose normal. Lembre-se, no entanto, de que os cromossomos politênicos possuem múltiplas cópias de cada cromátide, podendo apresentar mais de mil cromátides emparelhadas. Foto cedida por Louis Bernard Klaczko.

**!** Um mapa completo do padrão de bandas observado nos cromossomos politênicos de *Drosophila mediopunctata* foi recentemente estabelecido. Consulte o trabalho de Ananina e colaboradores (2002) para maiores informações sobre este assunto.

**Genética Básica**

Gabarrito

1. Para o indivíduo A transmitir o caráter dominante à sua prole, ele obrigatoriamente deve possuir o alelo dominante. Desta forma, ele deveria apresentar o fenótipo relacionado. Porém, ele apresenta a condição normal. Isso demonstra que esse caráter possui penetrância incompleta, onde nem todo indivíduo que possui o genótipo característico irá expressar a condição.
2. a) Por ser uma anomalia rara, assumimos que a chance de um indivíduo da população em geral possuir o alelo dominante que causa esta anomalia é desprezível. Assim, os indivíduos II.6, II.10 e III.13 devem possuir pelo menos um alelo dominante em seu genótipo, pois o transmitiram para seus descendentes. Como a polidactilia é uma anomalia autossômica dominante, eles deveriam ser afetados.  
b) Penetrância incompleta.
3. a) As duas anomalias em questão, pele escamosa e presença de muco espesso na saliva, são causadas por um só gene que possui expressividade variável, ou seja, um mesmo gene condiciona defeitos fenotípicos diferentes.  
b) O alelo que condiciona estas anomalias parece ser dominante pois indivíduos afetados aparecem com alta frequência em todas as gerações e, na maioria dos casos, indivíduos afetados possuem um dos pais afetados. Outra indicação de que este alelo é dominante é que, em mais de um caso, indivíduos afetados geram filhos afetados quando casam com indivíduos normais da população. Se a doença fosse condicionada por um alelo recessivo, deveríamos esperar que indivíduos normais da população fossem homocigóticos dominantes (AA, por exemplo) e que seus filhos não fossem afetados, já que herdariam pelo menos um alelo dominante (A\_). Além disso, podemos descartar a hipótese de ligação ao sexo pois em nenhum caso parece haver diferença entre machos e fêmeas na proporção de indivíduos afetados na prole dos casamentos. Podemos concluir, portanto, que o gene que condiciona estas anomalias é, muito provavelmente, **autossômico dominante**.

Tanto a expressividade variável quanto a penetrância incompleta são demonstradas no heredograma. Os indivíduos II.4, II.14, III.2 e III.4 têm descendentes com o distúrbio, embora eles mesmos não manifestem o distúrbio (exemplo de penetrância incompleta). Dos 16 indivíduos que têm o alelo expresso em seu fenótipo, 10 não têm presença de muco espesso na saliva (exemplo de expressividade variável).

4. O *imprinting* parental consiste num tipo de herança em que a expressão de um gene autossômico é controlada por sua origem parental. Assim, temos o *imprinting* materno quando a cópia do gene derivada da mãe se torna inativa e o *imprinting* paterno quando a cópia do gene derivada do pai é inativa. Quando os alelos desses genes são analisados em nível molecular, a mudança observada entre o alelo ativo e o inativo são grupos metila ( $\text{CH}_3$ ) extras presentes em algumas bases do DNA do gene que sofreu o *imprinting*.

5. a) Autossômica dominante com expressão tardia

b) Discussão sobre a possibilidade dos indivíduos em questão desenvolverem a doença de Huntington (HD): Assumindo que, em cada geração, os genitores tiveram os filhos aos 25 anos de idade, e que a maioria dos indivíduos portadores do alelo dominante manifesta a doença entre 40 e 60 anos (veja o gráfico), podemos chegar à conclusão de que Susana, muito provavelmente, não herdou o alelo que causa HD. Note que sua bisavó (indivíduo II.2) não manifestou a doença, apesar de possuir pelo menos 75 anos (idade em que 100% dos portadores do alelo manifestam a doença). Deste modo, a bisavó de Susana, muito provavelmente, não é portadora do alelo dominante e, portanto, não deve ter transmitido este alelo para as gerações seguintes. Por sua vez, Alan tem chances reais de ter herdado o alelo que causa HD, visto que seu bisavô (indivíduo II.6; idade mínima de 75 anos) apresentou esta doença, e que seu avô (indivíduo III.7; idade mínima de 50 anos) e seu pai (indivíduo IV.5; idade mínima de 25 anos) ainda podem apresentar HD. Portanto, podemos concluir que Alan possui 12,5% de chance de ter herdado o alelo que causa HD, e que pode manifestar esta doença a partir dos 20 anos.

Probabilidade de Alan ter herdado o alelo dominante que causa a doença:  $\frac{1}{2}$  (probabilidade do indivíduo III.7 ter herdado o alelo)  $\times$   $\frac{1}{2}$  (probabilidade do indivíduo IV.5 ter herdado o alelo)  $\times$   $\frac{1}{2}$  (probabilidade do próprio indivíduo V-2 ter herdado o alelo) =  $\frac{1}{8} = 0,125$  ou 12,5%.

6. Nas pessoas portadoras da síndrome, um defeito no gene FMR1, denominado "mutação completa", impede a produção da proteína FMRP, causando o conjunto de sintomas que dão origem à doença. Outros indivíduos são apenas portadores, não exibindo seus sintomas característicos. Eles possuem apenas um ligeiro defeito no gene FMR1, a que se dá o nome de "pré-mutação". Os indivíduos afetados pela síndrome do X frágil apresentam uma extensa região de DNA constituída por uma seqüência de trinucleotídeos de CGG com freqüência de mais de 200 repetições. Enquanto na população em geral o número de repetições desse trinucleotídeo varia de 6 a 50, nos indivíduos portadores da pré-mutação detecta-se um número intermediário de repetições (entre 50 e 200). Os homens com a pré-mutação a transmitem para suas

filhas com o número de repetições praticamente inalterado (como no caso do pai I.1 para a filha II.1 desse heredograma). Mas, quando transmitida por uma mulher, a pré-mutação pode sofrer aumento no número de repetições de trinucleotídeos, ficando ainda na categoria de pré-mutação (como no caso dos indivíduos III.3 e III.4) ou transformando-se numa mutação completa (como ocorreu com os indivíduos III.1 e III.2). Sendo assim, o risco de manifestação dessa síndrome para a prole de mulheres portadoras da pré-mutação é maior a cada geração.

7. Como você já sabe, a compensação de dose nos mamíferos é condicionada pela inativação aleatória de um dos cromossomos X, no início do desenvolvimento das fêmeas: espera-se que metade das células inative um dos cromossomos X e a outra metade o outro cromossomo. Nas mulheres heterozigóticas para a síndrome do X frágil ( $X^F X^+$ ), as células que inativarem o cromossomo X contendo o alelo selvagem ( $X^+$ ) não poderão produzir a proteína FMRP, pois o alelo mutante do outro cromossomo ( $X^F$ ) estará ativo e impedirá a produção da proteína FMRP; ao passo que as células que inativarem o cromossomo X contendo o alelo mutante ( $X^F$ ) poderão produzir a proteína FMRP, pois o alelo selvagem do outro cromossomo ( $X^+$ ) estará ativo. Deste modo, as mulheres heterozigóticas podem apresentar um quadro clínico mais brando pois não deixarão de produzir a proteína FMRP, embora a concentração seja menor em relação às mulheres normais ( $X^+ X^+$ ). No entanto, as mulheres homozigóticas para o alelo mutante que condiciona essa síndrome ( $X^F X^F$ ) apresentam um quadro clínico tão grave quanto o dos homens ( $X^F Y$ ), pois o alelo que impede a produção da proteína FMRP está presente em seus dois cromossomos X. Mas esses casos são raros entre as mulheres pois dependem do casamento entre dois indivíduos afetados ou portadores, o que geralmente é raro, exceto quando se tratam de pessoas da mesma família.

1. A cor depende da proporção de cloroplastos tipo selvagem e mutantes no tecido. Os gametas femininos dos setores verdes devem transmitir a cor verde, os gametas femininos dos setores brancos devem transmitir a cor branca e os gametas femininos dos setores verde-claro devem transmitir todas as três cores. Como essa característica é transmitida pelo cpDNA, os gametas masculinos não devem ter efeito na mesma, pois o pólen não possui este tipo de DNA extra nuclear.
2. A resistência ou sensibilidade a esses antibióticos é sempre herdada pelo citoplasma da célula (+), num caso de herança uniparental. Tanto as células (+) quanto as células (-) possuem o cpDNA; porém, quando ocorre o cruzamento, o cloroplasto da célula (-) é degradado e apenas o cloroplasto da célula (+) é transmitido às células-filhas. Assim, toda a prole é resistente à espectinomicina e sensível à estreptomicina porque apenas o cpDNA da célula (+) foi transmitido às células-filhas, sendo este cpDNA portador de um alelo que confere resistência ao antibiótico espectinomicina.
3. As linhagens *petites* sofrem de um defeito no metabolismo de glicose. Esse defeito é causado pelas mitocôndrias das células que são malformadas, gerando células de tamanho reduzido. Existem duas classes de mutantes. Os mutantes *petites* neutros são caracterizados pela incapacidade de transmitir o fenótipo *petite* para a prole em um cruzamento com linhagens selvagens. Nesses cruzamentos, todos os quatro haplóides originários do cruzamento crescem em colônias grandes, sugerindo que a mutação *petite* tenha sido perdida (M1). Em contraste, os mutantes *petites* supressivos são, em condições apropriadas, capazes de transmitir o fenótipo *petite* para toda a sua prole, sugerindo que a condição tipo selvagem foi perdida (M2).
4. Como só as mulheres transmitem a doença a todos os seus filhos, provavelmente é um tipo de herança mitocondrial. As doenças provenientes de defeitos em genes do genoma mitocondrial são transmitidas como as próprias mitocôndrias, isto é, da mãe para toda prole, independente do sexo. Observe que todos os filhos de mães afetadas (mães I.2, II.2, II.4 e II.6) são também afetados, ao passo que nenhum dos filhos de pais afetados (pais II.1, II.3 e II.5) herda essa doença.

5. a) A cardiomiopatia é transmitida somente pela mãe para a prole, tanto masculina quanto feminina. Esse padrão de herança materna sugere que a característica é causada por uma mutação no genoma mitocondrial.
- b) Os graus variáveis de gravidade da cardiomiopatia podem ser devidos a números variáveis de mitocôndrias mutantes que resultam da segregação citoplasmática durante a divisão celular. Outros fatores que podem influenciar a gravidade da condição são a interação com genes nucleares e as variáveis ambientais.
6. a) Provavelmente, essa anomalia visual possui um padrão de herança materna, devido a uma mutação no genoma mitocondrial, pois é transmitida somente pela mãe para toda a prole.
- b) A ausência da anomalia nos indivíduos II.1 e II.4 é explicada pela baixa frequência do alelo que causa a anomalia na população em geral, uma vez que esta anomalia é rara. Deste modo, a chance de um indivíduo da população em geral ter herdado, de sua mãe, o alelo mutante para essa anomalia pode ser considerada desprezível.
- c) Os indivíduos III.8 a III.13 não são afetados pois a mãe não era afetada e, portanto, não poderia transmitir o alelo que causa essa anomalia a seus descendentes.
- d) No caso do indivíduo III.3, a ausência da anomalia sugere que ela possua penetrância incompleta, já que este indivíduo herdou o alelo mutante de sua mãe mas não apresentou a anomalia.

1. d, g, f, b, l, a, h/g, e, i, j, c, k.
2. b
3. a
4. d
5. c
6. Porque quanto maior for a distância entre dois genes ligados maior a probabilidade de ocorrer permuta na região entre esses genes e, portanto, maior é a proporção de recombinantes produzidos. Essa proporção de recombinantes pode chegar a 50%, que é a mesma proporção encontrada para genes localizados em cromossomos diferentes (com segregação independente). Portanto, genes que estão muito distantes no mesmo cromossomo podem agir de modo virtualmente independente e produzir o mesmo resultado, já que praticamente todas as permutas ocorrerão entre eles.
7. a) Fenótipos parentais: asas vestigiais e presença de aristas, asas longas e ausência de aristas.  
Fenótipos recombinantes: asas vestigiais e ausência de aristas, asas longas e presença de aristas.
- b) Freqüência de recombinação:  $FR = (297 + 301) / 1170 = 0,511$  ou 51,1%. Note que a FR é maior que 50%! Mas como isto é possível? Devemos levar em consideração que estamos analisando apenas uma amostra dos eventos de recombinação e que, por esse motivo, estamos sujeitos a erros.
- c) P – vvAA (mosca de asas vestigiais e presença de aristas)  
VVaa (mosca de asas longas e ausência de aristas)  
 $F_1$  – 100% VvAa (moscas de asas longas e presença de aristas)  
Prole do cruzamento-teste – vvAa (mosca de asas vestigiais e presença de aristas)  
vvaa (mosca de asas vestigiais e ausência de aristas)  
VvAa (mosca de asas longas e presença de aristas)  
Vvaa (mosca de asas longas e ausência de aristas)
- d) A proporção fenotípica esperada pela 2ª Lei de Mendel para cruzamentos-teste de indivíduos duplo-heterozigóticos é 1:1:1:1.

e) Cálculo da frequência de indivíduos observados em cada uma das classes fenotípicas ( $n^\circ$  de indivíduos observados / total de indivíduos):

– asas vestigiais e presença de aristas:  $282 / 1170 = 0,241 \approx 25\%$

– asas vestigiais e ausência de aristas:  $297 / 1170 = 0,254 \approx 25\%$

– asas longas e presença de aristas:  $301 / 1170 = 0,257 \approx 25\%$

– asas longas e ausência de aristas:  $290 / 1170 = 0,248 \approx 25\%$ .

Como a proporção fenotípica observada neste cruzamento-teste é, aproximadamente, 1:1:1:1 ( $\approx 25 : 25 : 25 : 25$ , em 100 indivíduos), consideramos que os resultados observados estão de acordo com o esperado pela lei da segregação independente.

Isso significa que não podemos rejeitar a hipótese de que esses dois genes, que controlam a forma da asa e a presença de aristas, estejam segregando independentemente.

f) Não podemos afirmar se esses genes estão localizados em cromossomos diferentes ou se estão tão distantes no mesmo cromossomo que a frequência de recombinação entre esses genes chegou a 50%. Em ambos os casos os resultados obtidos estariam de acordo com a lei da segregação independente.

8. a) Fenótipos parentais: asas vestigiais e olhos marrons, asas longas e olhos vermelhos.

Fenótipos recombinantes: asas vestigiais e olhos vermelhos, asas longas e olhos marrons.

b) Frequência de recombinação:  $FR = (58 + 67) / 1020 = 1,123$  ou 12,3%

c) P – vvmm (mosca de asas vestigiais e olhos marrons)

VVMM (mosca de asas longas e olhos vermelhos)

$F_1$  – 100% VvMm (moscas de asas longas e olhos vermelhos)

Prole do cruzamento-teste – vvmm (mosca de asas vestigiais e olhos marrons)

vvMm (mosca de asas vestigiais e olhos vermelhos)

Vvmm (mosca de asas longas e olhos marrons)

VvMm (mosca de asas longas e olhos vermelhos)

d) A proporção fenotípica esperada pela 2ª Lei de Mendel para cruzamentos-teste de indivíduos duplo-heterozigóticos é 1:1:1:1.

e) Cálculo da frequência de indivíduos observados em cada uma das classes fenotípicas ( $n^\circ$  de indivíduos observados / total de indivíduos):

– asas vestigiais e olhos marrons:  $440 / 1020 = 0,431 \approx 44\%$

– asas vestigiais e olhos vermelhos:  $58 / 1020 = 0,057 \approx 6\%$

– asas longas e olhos marrons:  $67 / 1020 = 0,066 \approx 6\%$

– asas longas e olhos vermelhos:  $455 / 1020 = 0,446 \approx 44\%$ .

Como a proporção fenotípica observada neste cruzamento-teste é, aproximadamente, 7,3 : 1 : 1 : 7,3 ( $\approx 44 : 6 : 6 : 44$ , em 100 indivíduos), consideramos que os resultados observados não estão de acordo com o esperado pela lei da segregação independente (1:1:1:1).

Isso significa que podemos rejeitar a hipótese de que esses dois genes, que condicionam a forma da asa e a cor do olho, estejam segregando independentemente. Em outras palavras, deve haver uma causa real para a ocorrência dessa diferença entre proporção fenotípica observada e a proporção fenotípica esperada.

f) Podemos concluir que esses genes estão localizados no mesmo cromossomo.

9. Freqüências de recombinação entre os genes analisados nos exercícios 7 e 8:

– FR entre v e a = 51,1%

– FR entre v e m = 12,3%

Analisando as freqüências de recombinação entre esses genes, podemos concluir que os genes que controlam a forma da asa (v) e a cor do olho (m) estão mais próximos entre si (FR menor) do que os genes que controlam a forma da asa (v) e a presença de aristas (a) (FR maior). Mas, não podemos dizer nada sobre a distância entre os genes que condicionam a cor do olho e a presença de aristas, pois a freqüência de recombinação entre esses genes (FR entre m e a) não foi estimada.

10. a) P – BBmm (fruto redondo e folhas murchas)

bbMM (fruto bicudo e folhas normais)

F<sub>1</sub> – 100% BbMm (fruto redondo e folhas normais)

Prole do cruzamento-teste – BbMm (fruto redondo e folhas normais)

Bbmm (fruto redondo e folhas murchas)

bbMm (fruto bicudo e folhas normais)

bbmm (fruto bicudo e folhas murchas)

b) Cálculo da freqüência das plantas observadas em cada uma das classes fenotípicas (nº de plantas observadas / total de plantas):

– fruto redondo e folhas normais:  $246 / 2300 = 0,107 \approx 11\%$

– fruto redondo e folhas murchas:  $904 / 2300 = 0,393 \approx 39\%$

– fruto bicudo e folhas normais:  $898 / 2300 = 0,390 \approx 39\%$

– fruto bicudo e folhas murchas:  $252 / 2300 = 0,110 \approx 11\%$ .

Como a proporção fenotípica observada neste cruzamento-teste é, aproximadamente, 1 : 3,5 : 3,5 : 1 ( $\approx 11 : 39 : 39 : 11$ , em 100 indivíduos), consideramos que os resultados observados não estão de acordo com o esperado pela lei da segregação independente (1:1:1:1).

Isso significa que podemos rejeitar a hipótese de que esses dois genes, que

condicionam a forma do fruto e a forma das folhas em uma espécie de tomateiros, estejam segregando independentemente. Em outras palavras, deve haver uma causa real para a ocorrência dessa diferença entre a proporção fenotípica observada e a proporção fenotípica esperada. Podemos concluir, portanto, que esses genes estão ligados.

## Aula 14

---

1. c, b, a, d.

2. b

3. c

4. a

5. a) Total observado = 894 indivíduos

- Genótipos parentais são os que possuem maior número de indivíduos: AbC e aBc

- Recombinantes entre A e B são os indivíduos que possuem genótipos AB ou ab:

$$12 + 12 + 0 + 1 = 25$$

Freqüência de recombinação entre A e B:  $(25 / 894) \times 100 = 2,8\% = 2,8 \text{ u.m.}$

- Recombinantes entre B e C são os indivíduos que possuem genótipos BC ou bc:

$$20 + 19 + 0 + 1 = 40$$

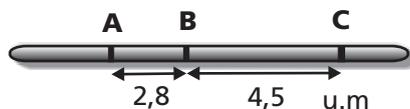
Freqüência de recombinação entre B e C:  $(40 / 894) \times 100 = 4,5\% = 4,5 \text{ u.m.}$

- Recombinantes entre A e C são os indivíduos que possuem genótipos Ac ou aC:

$$12 + 12 + 20 + 19 = 63$$

Freqüência de recombinação entre A e C:  $(63 / 894) \times 100 = 7,0\% = 7,0 \text{ u.m.}$

b) Como os *loci* A e C possuem os maiores valores de FR, eles devem estar mais distantes e, portanto, o locus B está localizado entre eles. Dessa forma, podemos fazer um mapa da seguinte forma:



Quando somamos as distâncias entre A e B, e B e C, encontramos uma distância de 7,3 u.m. (unidades de mapa), sendo 1 u.m. correspondente a 1% de recombinação. Essa distância é maior do que a distância entre A e C calculada através das freqüências de recombinantes. Isso acontece porque não levamos em consideração

que as classes mais raras são provenientes de permutação dupla (entre A e B e entre B e C) e, portanto, devemos contar cada uma delas duas vezes. Sendo assim:

- Recombinantes entre A e C são os indivíduos que possuem genótipos Ac ou aC e os indivíduos duplo recombinantes somados 2 vezes:  $12 + 12 + 20 + 19 + 0 + 0 + 1 + 1 = 65$ .

Freqüência de recombinação entre A e C:  $(65 / 894) \times 100 = 7,3\%$ , logo, a distância estimada entre A e C é 7,3 u.m., sendo igual à soma das distâncias menores.

#### 6. Fenótipos mutantes encontrados:

- Asas de tamanho normal (selvagem) x asas de tamanho reduzido (mutante para o gene hipotético r);
- Olhos de cor escura normal (selvagem) x olhos claros (mutante para o gene hipotético c);
- Corpo acinzentado normal (selvagem) x corpo preto (mutante para o gene hipotético p).

a) - Classes fenotípicas parentais: classe 3 e classe 5. Fenótipos parentais são os que possuem maior número de indivíduos na prole do cruzamento-teste. Além disso, podemos determinar o genótipo desses indivíduos: enquanto na classe 3 os indivíduos são totalmente selvagens (+++/rcp), na classe 5 os indivíduos são triplo-mutantes (rcp/rcp).

- Classes recombinantes: a classe 1 (++p/rcp) e a classe 8 (rc+/rcp) são recombinantes entre os genes r-p e entre c-p. Por sua vez, a classe 6 (+cp/rcp) e a classe 7 (r++/rcp) são recombinantes entre os genes r-c e entre r-p.

- Classes duplo-recombinantes: classe 2 (+c+/rcp) e classe 4 (r+p/rcp). Essas classes são também recombinantes entre os genes r-c e entre c-p.

b) Como a proporção fenotípica esperada pela lei da segregação independente para cruzamentos-teste triíbridos é 1:1:1:1:1:1:1:1 e o  $\chi^2$  calculado (= 2607,296) é maior do que o  $\chi^2$  crítico (= 14,07; para g.l. = 7 e  $\alpha = 0,05$ ), podemos concluir que as proporções observadas não estão de acordo com o esperado pela lei da segregação independente. Isso significa que a probabilidade de que os desvios em relação ao esperado estejam ocorrendo ao acaso é menor do que 5%. Desse modo, devemos rejeitar a  $H_0$  e considerar que esses genes não segregam independentemente, podendo estar, pelo menos dois deles, localizados no mesmo cromossomo.

c) Total observado = 2000 indivíduos

- Recombinantes entre r e c são os indivíduos das classes 2, 4, 6 e 7:

FR r e c:  $11 + 19 + 71 + 89 = 190/2000 = 0,095 \times 100 = 9,5\%$  ou 9,5 u.m.

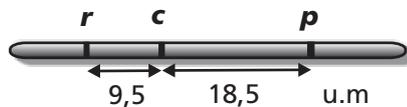
- Recombinantes entre c e p são os indivíduos das classes 1, 2, 4 e 8:

FR c e p:  $174 + 11 + 19 + 166 = 370/2000 = 0,185 \times 100 = 18,5\%$  ou 18,5 u.m.

- Recombinantes entre r e p são os indivíduos das classes 1, 6, 7 e 8:  
FR r e p:  $174 + 71 + 89 + 166 = 500/2000 = 0,250 \times 100 = 25,0\%$  ou 25 u.m.

A partir desses dados, podemos fazer as seguintes observações:

- Como as FR estimadas para cada par de genes foram consideravelmente menores do que 50%, podemos considerar que os três genes envolvidos estão localizados no mesmo cromossomo.
- Os loci r e p possuem a maior FR e estão, portanto, mais distantes no cromossomo; o locus c se localiza entre eles. Observe o mapa de ligação:



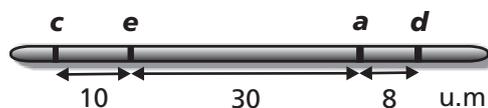
- Quando somamos as distâncias r-c e c-p, encontramos uma distância de 28 u.m. No entanto, essa distância é maior do que a distância r-p calculada (25 u.m.). Para corrigi-la, devemos levar em consideração as classes duplo-recombinantes, que serão contadas duas vezes cada uma:  
FR r-p corrigida:  $174 + 71 + 89 + 166 + 11 + 11 + 19 + 19 = 560/2000 = 0,280 \times 100 = 28,0\%$  ou 28 u.m.

7. A partir dos dados da tabela, podemos identificar dois grupos de ligação:

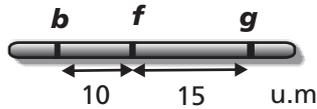
- 1º grupo de ligação: os genes a, c, d, e estão localizados no mesmo cromossomo, pois a FR entre cada par desses genes é menor que 50%;
- 2º grupo de ligação: os genes b, f e g estão localizados juntos em um outro cromossomo, pois a FR entre cada par desses genes é menor que 50%, enquanto a FR entre cada gene desse grupo e qualquer um dos genes do 1º grupo é sempre 50%, sugerindo a existência dos dois grupos de ligação.

b) A maneira mais simples de ordenar os genes em cada cromossomo é mapear primeiro os genes mais distantes entre si, para depois deduzir a ordem dos genes localizados entre esses genes mais distantes:

- 1º grupo de ligação: os genes mais distantes são os genes c e d (48 u.m.); o gene e está mais próximo do gene c (10 u.m.) do que do gene d (38 u.m.); e o gene a está mais próximo do gene d (8 u.m.) do que do gene c (40 u.m.).



2º grupo de ligação: os genes mais distantes são os genes b e g (25 u.m.); o gene f está localizado entre esses genes, estando mais próximo do gene b (10 u.m.) do que do gene g (15 u.m.).



1. c

2. b

3. a

4. d

5. b

6. Cruzamento: AaBb x AaBb

Proporção genotípica esperada → 9 A\_B\_ : 3 A\_bb : 3 aaB\_ : 1 aabb.

a) aa \_\_ e \_\_ bb → fenótipo A

A\_ B\_ → fenótipo B

Proporção fenotípica esperada → 9 fenótipo B : 7 fenótipo A → 9 : 7.

b) Cada alelo dominante (A e B) condiciona a produção de uma quantidade X de um mesmo pigmento

Os alelos recessivos (a e b) não produzem nenhum tipo de pigmento

Proporção fenotípica esperada 1 indivíduo com 4X do pigmento (AABB) : 4 indivíduos com 3X do pigmento (2 AABb e 2 AaBB) : 6 indivíduos com 2X do pigmento (1 AAbb, 4 AaBb e 1aaBB) : 4 indivíduos com 1X do pigmento (2 Aabb e 2 aaBb) : 1 indivíduo sem pigmento (1 aabb) 1 : 4 : 6 : 4 : 1

Note que esta proporção representa uma escala de cores que varia do mais pigmentado (indivíduo AABB) ao menos pigmentado (aabb).

c) A\_ \_\_ ou \_\_ B\_ → fenótipo A

aabb → fenótipo B

Proporção fenotípica esperada → 15 fenótipo A : 1 fenótipo B → 15 : 1.

7. Observado:

P – raiz alongada x raiz arredondada

F<sub>1</sub> – proporção fenotípica → 100% raiz ovalada

$F_2$  – proporção fenotípica → 100 raízes alongadas : 195 raízes ovaladas : 105 raízes arredondadas ( $\approx 1$  alongada : 2 ovaladas : 1 arredondada) → total 400 plantas.

a) Hipótese: a característica forma da raiz é controlada por um gene com dois alelos em co-dominância; logo, o genótipo do indivíduo de raiz alongada é  $A_1A_1$ , do indivíduo de raiz arredondada é  $A_2A_2$  e do indivíduo de raiz ovalada é  $A_1A_2$ .

b) Esperado pela hipótese proposta:

P –  $A_1A_1$  (raiz alongada) x  $A_2A_2$  (raiz arredondada)

$F_1$  – proporção fenotípica → 100% raiz ovalada

proporção genotípica → 100%  $A_1A_2$

$F_2$  – proporção fenotípica → 100 raízes alongadas : 200 raízes ovaladas : 100 raízes arredondadas (1 alongada : 2 ovaladas : 1 arredondada)

proporção genotípica → 1  $A_1A_1$  : 2  $A_1A_2$  : 1  $A_2A_2$

c) Os resultados esperados por essa hipótese são uma extensão às leis mendelianas, em que o alelo  $A_1$  apresenta dominância incompleta sobre o alelo  $A_2$ .

8. Observado:

P – frutos discóides x frutos alongados

$F_1$  – proporção fenotípica → 100% frutos discóides

$F_2$  – proporção fenotípica → 45 frutos discóides : 30 frutos esféricos : 5 frutos alongados (9 discóides : 6 esféricos : 1 alongado) → total 80 frutos.

a) Hipótese: a forma dos frutos é uma característica controlada por dois genes que interagem da seguinte maneira → os dois genes na condição homocigótica recessiva (aabb) condiciona o fenótipo frutos alongados; qualquer um dos genes na condição homocigótica recessiva (aaB\_ ou A\_bb), independentemente da condição do outro gene condiciona o fenótipo frutos esféricos, e as demais situações (cada gene, com pelo menos um alelo dominante: A\_B\_) condicionam o fenótipo frutos discóides.

b) Esperado pela hipótese proposta:

P – AABB (frutos discóides) x aabb (frutos alongados)

$F_1$  – proporção fenotípica → 100% frutos discóides

proporção genotípica → 100% AaBb

$F_2$  – proporção fenotípica → 45 frutos discóides : 30 frutos esféricos : 5 frutos alongados (9 discóides : 6 esféricos : 1 alongado)

proporção genotípica → 9 (A\_B\_) : 6 (3 A\_bb e 3 aaB\_) : 1 (aabb).

c) Não, os resultados esperados por essa hipótese não estão de acordo com as leis mendelianas. Nesse caso, existe uma interação gênica entre os dois genes que controlam a característica forma do fruto, provocando um desvio nas proporções esperadas pelas leis de Mendel.

9. P – Aabb x AaBB

F<sub>1</sub> – 1 AABb : 2 AaBb : 1 aaBb

A massa máxima será do indivíduo com genótipo AABb, que pesará 80g (50g de massa básica + 30g – 10g por alelo dominante). A massa mínima será do indivíduo com genótipo aaBb, que pesará 60g (50g de massa básica + 10g – apenas 1 alelo dominante).

10. a) CC ou Cc produz pigmento

cc não produz pigmento

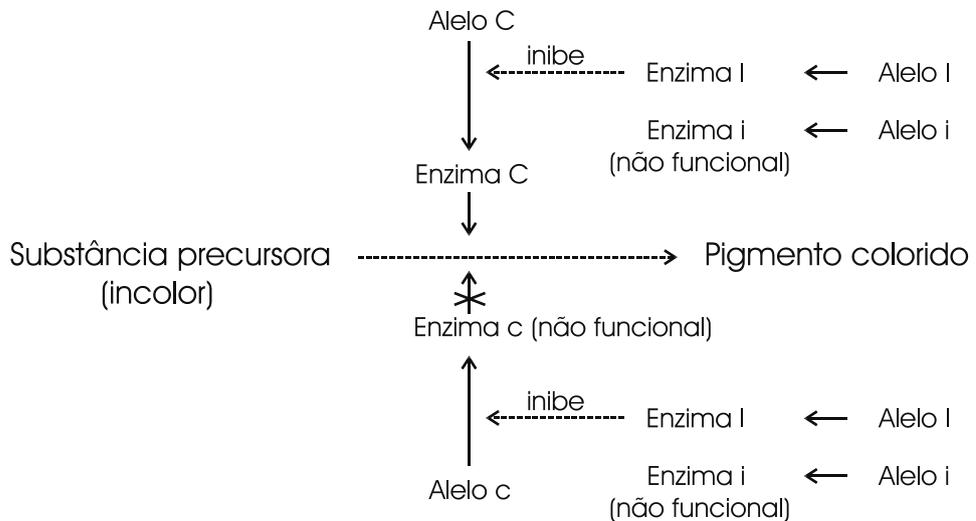
I<sub>1</sub> ou I<sub>2</sub> inibe a produção de pigmento pelo gene C

i<sub>1</sub> i<sub>2</sub> não inibe a produção de pigmento pelo gene C

Dessa forma, C<sub>1</sub> I<sub>1</sub>, C<sub>1</sub> I<sub>2</sub>, C<sub>2</sub> I<sub>1</sub> e C<sub>2</sub> I<sub>2</sub> não produzem pigmento (fenótipo plumagem branca), enquanto que C<sub>1</sub> i<sub>1</sub> i<sub>2</sub> produz pigmento (fenótipo plumagem colorida)

A proporção fenotípica da prole de um cruzamento entre indivíduos duplo heterozigóticos (CcIi) será: 13 plumagem branca (9 C<sub>1</sub> I<sub>1</sub>, 3 C<sub>2</sub> I<sub>1</sub> e 1 C<sub>2</sub> I<sub>2</sub>) : 3 plumagem colorida (3 C<sub>1</sub> i<sub>1</sub> i<sub>2</sub>)

b)



11.

	Caráter	Cruzamento	F1	F2
Boca-de-leão	Cor da flor	branca (AAbb) x púrpura (aaBB)	100% brancas (AaBb)	240 brancas $A\_B\_ 9$ 61 púrpuras $A\_bb 3$ 19 verdes $aaB\_ 3$ 12:3:1 epistasia dominante
Sálvia	Cor da flor	rosa ( $A_1A_1$ ) x branca ( $A_2A_2$ )	100% violeta ( $A_1A_2$ )	225 violetas $A_1A_2 2$ 92 rosas $A_1A_1 1$ 114 brancas $A_2A_2 1$ 1:2:1 dominância incompleta
Camundongos	Cor do pêlo	preto (AAbb) x albino (aaBB)	100% agouti (AaBb)	56 agouti $A\_B\_ 9$ 17 pretos $A\_bb 3$ 22 albinos $aaB\_ 3$ 9:3:4 epistasia recessiva
Tomate	Tamanho da planta e tipo do caule	alta sem cerda (AAbb) x anã com cerdas longas (aaBB)	100% altas com cerdas curtas (AaBb)	3 altas sem cerdas $A\_bb$ 6 altas com cerdas curtas $A\_Bb$ 3 altas com cerdas longas $A\_BB$ 1 anã sem cerdas $aabb$ 2 anãs com cerdas curtas $aaB\_$ 1 anã com cerdas longas $aaBB$  Tamanho da planta – dominância completa Tipo do caule – dominância incompleta

## 12. Teste do Qui-Quadrado

$$\alpha = 0,05$$

Classes	Observado	Hipótese	Esperado	$((OBS-ESP)^2)/ESP$
agouti	56	9	53,1	0,16
pretos	17	3	17,7	0,03
albinos	22	4	23,6	0,11
Total	95			

$$\chi^2 = 0,16 + 0,03 + 0,11 = 0,3;$$

$$G.L. = 3 - 1 = 2;$$

$$P < 0,05.$$

Conclusão: A hipótese de epistasia recessiva para explicar o padrão de variação da cor da pelagem em camundongos não deve ser rejeitada.

ATIVIDADE 1: atividade para ser desenvolvida pelo aluno e discutida com colegas e tutores.

1. As características cor da pele em humanos (a), taxa de crescimento de canários (c) e comprimento do fio de lã em ovelhas (d) podem ser consideradas características quantitativas, pois a variação fenotípica encontrada em cada uma delas é contínua, isto é, não pode ser dividida em classes discretas de fenótipos.

Por sua vez, as características cor das ervilhas estudadas por Mendel (b) e lobo da orelha preso ou solto em humanos (e) são consideradas características discretas, pois os fenótipos dos indivíduos se dividem em classes discretas. Por exemplo, as ervilhas são classificadas apenas em duas classes de cores, verde ou amarela, não existindo classes intermediárias.

2. Para determinar se esse caráter é controlado por mais de um gene, devemos analisar as proporções fenotípicas, encontradas na F<sub>2</sub>, do cruzamento entre essas duas linhagens de feijão totalmente homocigóticas. Caso apenas um gene esteja envolvido, as proporções fenotípicas esperadas na F<sub>2</sub> para este cruzamento são 3:1 (no caso de dominância completa entre os alelos) ou 1:2:1 (no caso de co-dominância). Se qualquer outra proporção for encontrada, podemos descartar a hipótese de que apenas um gene está envolvido no controle desse caráter.

3. a) Como a proporção observada de indivíduos F<sub>2</sub> com um dos fenótipos parentais depende do número de genes (n) envolvidos no controle do caráter, podemos determinar o número mais provável de genes, ou pares de alelos, que determinam o comprimento da corola da flor de *Nicotiana longiflora* através da fórmula:  $n = \log(\text{proporção fenotípica observada na F}_2 \text{ de indivíduos com fenótipo igual a um dos parentais}) / \log(1/4)$ .

$$n = \log(0,005) / \log(0,25) \rightarrow n = -2,3 / -0,6 \rightarrow n = 3,8 \cong 4 \text{ genes}$$

b) Esperamos encontrar 9 classes fenotípicas esperadas na F<sub>2</sub> ( $= 2 \times 4 + 1$ ).

c) Se quatro genes estão envolvidos no controle do caráter, temos 8 alelos contribuindo para a diferença observada entre as duas linhagens parentais. Considerando que esses alelos atuam de forma aditiva, a planta de corola curta ( $= 28\text{mm}$ ) possui todos os alelos não contribuintes (aabbccdd), tendo o tamanho mínimo. Já a planta de corola longa ( $= 68\text{mm}$ ) possui todos os alelos contribuintes (AABBCCDD), tendo o tamanho máximo. Cada alelo contribuinte, acrescenta ao tamanho da corola  $(68-28)/8 = 5\text{mm}$ . Assim, por exemplo, as plantas que possuírem 3 alelos contribuintes (AAbbCcdd ou aaBbCcDd ou AaBBccdd, etc.) terão o tamanho de corola  $= 28 + (5 \times 3) = 43\text{mm}$ .

- d) Os pressupostos necessários para que essa estimativa seja válida são:
- em cada gene existem apenas dois alelos com efeito aditivo, sendo que um alelo contribui de maneira aditiva para a determinação do fenótipo, enquanto que o outro alelo não contribui;
  - não existe ligação gênica nem efeitos de dominância entre alelos do mesmo gene ou efeitos de interação entre alelos de genes diferentes;
  - variações nas condições ambientais não alteram o fenótipo dos indivíduos.

4. a)

Caráter	Altura (cm)		Peso (kg)	
	Média dos filhos	Média dos pais	Média dos filhos	Média dos pais
n	20	20	20	20
Média	166,350	166,800	60,950	68,150
Variância	90,555	27,879	114,997	77,581

b) Comparação das médias entre pais e filhos (teste-t):

- Altura:  $t = -0,236$ ;  $P > 0,05$  ( $t_{\text{crítico}} = \pm 2,093$ ; para g.l. = 19 e  $\alpha = 0,05$ ).  
Como a probabilidade de que a diferença entre a média dos pais e a média dos filhos esteja ocorrendo ao acaso é maior do que 5%, não podemos rejeitar a nossa hipótese inicial ( $H_0$ ) de que essas médias não sejam diferentes. Em outras palavras, **podemos dizer que não foi possível detectar diferença significativa entre a média da altura dos pais e a média da altura dos filhos.**
- Peso:  $t = -2,467$ ;  $P < 0,05$  ( $t_{\text{crítico}} = \pm 2,093$ ; para g.l. = 19 e  $\alpha = 0,05$ ).  
Como a probabilidade de que a diferença entre a média dos pais e a média dos filhos esteja ocorrendo ao acaso é menor do que 5%, podemos rejeitar a nossa hipótese inicial ( $H_0$ ) de que essas médias não sejam diferentes. Desse modo, podemos concluir que existe diferença significativa entre a média do peso dos pais e a média do peso dos filhos, sendo os pais significativamente mais pesados do que os filhos.

Comparação das variâncias entre pais e filhos (teste F):

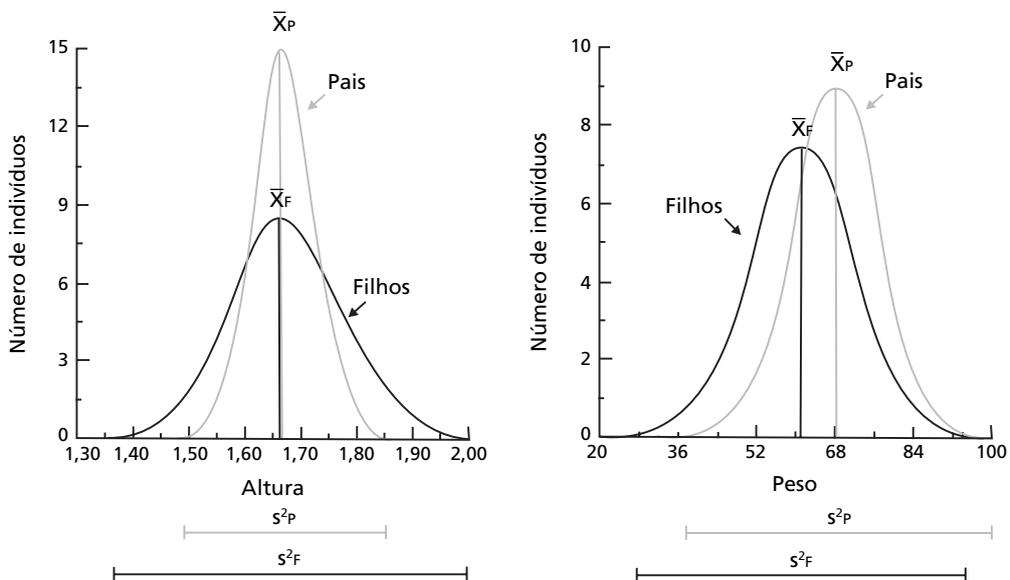
- Altura:  $F = 3,248$ ;  $P < 0,05$  ( $F_{\text{crítico}} = 2,168$ ; para g.l.<sub>1</sub> = 19, g.l.<sub>2</sub> = 19 e  $\alpha = 0,05$ ).  
Como a probabilidade de que a diferença entre a variância dos pais e a variância dos filhos esteja ocorrendo ao acaso é menor do que 5%, podemos rejeitar a nossa hipótese inicial ( $H_0$ ), de que estas variâncias não sejam diferentes. Desse modo, podemos concluir que existe diferença significativa entre a variância da altura dos pais e a variância da altura dos filhos, sendo a variação na altura dos filhos significativamente maior do que a variação na altura dos pais.

- Peso:  $F = 1,482$ ;  $P > 0,05$  ( $F_{\text{crítico}} = 2,168$ ; para  $g.l._1 = 19$ ,  $g.l._2 = 19$  e  $\alpha = 0,05$ ).

Como a probabilidade de que a diferença entre a variância dos pais e a variância dos filhos esteja ocorrendo ao acaso é maior do que 5%, não podemos rejeitar a nossa hipótese inicial ( $H_0$ ) de que essas variâncias não sejam diferentes. Em outras palavras, podemos dizer que não foi possível detectar diferença significativa entre a variância do peso dos pais e a variância do peso dos filhos.

Conclusão:

Enquanto o caráter altura dos indivíduos apresenta médias iguais e variâncias significativamente diferentes entre pais e filhos, o caráter peso dos indivíduos apresenta médias significativamente diferentes e variâncias iguais! Podemos representar essa diferença na distribuição dos valores individuais para os caracteres altura e peso em forma de gráficos. Analise os gráficos abaixo e veja se você ainda tem alguma dúvida. Discuta suas dúvidas com seus colegas e tutores.



6. 1) Antes da seleção não havia diferença significativa no fenótipo (peso em gramas dos pêssegos) entre as populações A e B ( $\bar{X}_A = 11,75g$ ;  $\bar{X}_B = 11,81g$ ). Observe a comparação entre as médias dessas populações antes da seleção:  $t = -0,235$ ;  $P > 0,05$  ( $t_{\text{crítico}} = \pm 2,131$ ; para  $g.l. = 15$  e  $\alpha = 0,05$ ). Além disso, as variâncias também não apresentaram diferença significativa antes da seleção, reforçando a observação de que não há diferença significativa no fenótipo entre as populações A e B:  $F = 1,840$ ;  $P > 0,05$  ( $F_{\text{crítico}} = 2,403$ ; para  $g.l._1 = 15$ ,  $g.l._2 = 15$  e  $\alpha = 0,05$ ).

- 2) Após a seleção, no entanto, a diferença no fenótipo (peso em gramas dos pêssegos) entre as populações A e B passou a ser significativa. Observe a comparação entre as médias dessas populações após a seleção ( $\bar{X}_A = 15,63\text{g}$ ;  $\bar{X}_B = 11,75\text{g}$ ):  $t = -14,062$ ;  $P < 0,05$  ( $t_{\text{crítico}} = \pm 2,160$ ; para g.l. = 13 e  $\alpha = 0,05$ ). Nesse caso, também, as variâncias não apresentaram diferença significativa:  $F = 1,700$ ;  $P > 0,05$  ( $F_{\text{crítico}} = 2,533$ ; para g.l.<sub>1</sub> = 15, g.l.<sub>2</sub> = 13 e  $\alpha = 0,05$ ). Entretanto, como as médias são diferentes, podemos concluir que houve modificação significativa na média fenotípica entre as populações A e B após a seleção, mas que a variação dos valores individuais em torno dessas médias não é significativamente diferente.
- 3) Considerando que as médias das populações antes da seleção não são diferentes (peso médio A = peso médio B  $\approx 11\text{g}$ ) e que as médias das populações após a seleção apresentaram diferença significativa, podemos concluir que as linhagens de pêssegos A e B responderam de maneira distinta à seleção. A linhagem B apresentou uma resposta maior à seleção, já que a diferença entre o peso final e o peso inicial para essa linhagem ( $15,63 - 11 = 4,63\text{g}$ ) foi maior do que a diferença entre o peso final e o peso inicial para a linhagem A ( $11,75 - 11 = 1,75\text{g}$ ).
- 4) Uma hipótese que pode ser levantada é de que, embora as populações A e B tivessem a mesma média e variância, a variação fenotípica observada na linhagem B tem uma contribuição genética maior do que a observada na linhagem A. Ou, em outras palavras, o efeito do ambiente sobre a variação na linhagem A é maior do que sobre a linhagem B.  
Você entenderá isso melhor após estudar a Aula 17.

Análise dos resultados:

Linhagens	Valores antes da seleção		Valores após a seleção	
	A	B	A	B
n	16	16	14	16
Média	11,75	11,81	13,71	15,63
Variância	3,13	5,76	4,07	6,92

1. Atividade a ser desenvolvida pelo aluno e discutida com os colegas e tutores.
2. Quando dois genótipos distintos possuem normas de reação significativamente diferentes, podemos concluir que esses genótipos respondem de maneira diferente às mesmas variações no ambiente, ou seja, existe uma interação genótipo-ambiente significativa. Como você viu na aula, enquanto um dado genótipo ( $G_1$ ) responde (determinando um fenótipo diferente) numa determinada direção quando a temperatura ambiental aumenta, um outro genótipo ( $G_2$ ) responde na direção contrária a esse mesmo aumento na temperatura (Figura 17.5.b e c).
3. a)

Geração	Nº de folhas por planta	
	F1	F2
n	10	10
Média	15,10	17,40
Variância	2,32	5,16

- b) Do cruzamento entre duas linhagens puras resultam apenas plantas heterozigóticas para todos os genes envolvidos. Assim, como todas as plantas da F1 possuem o mesmo genótipo, podemos concluir que não há variação genética nessa geração ( $V_G = 0$ ), e que toda variação fenotípica encontrada (a variância dos dados) deve estar sendo causada pela ação da variação ambiental ( $V_F = V_A$ ). Logo,  $V_A = 2,32$  (a variância da F1).
- c) Considerando que a variação ambiental não se modificou entre as gerações, podemos utilizar a estimativa de  $V_A$  na geração F1 para o nosso cálculo, ou seja,  $V_A$  na geração F2 =  $V_A$  na geração F1 = 2,32. No entanto, também existe variação genética ( $V_G \neq 0$ ) entre os indivíduos nesta geração, pois do cruzamento entre as plantas heterozigóticas da F1, esperamos encontrar  $3^n$  genótipos diferentes na prole. Como  $V_F = V_G + V_A$  e  $V_A = 2,32$ , podemos concluir que  $V_G = V_F - V_A$ , logo  $V_G = 5,16 - 2,32 = 2,84$ .

- d) Na F1, o valor da herdabilidade sentido amplo ( $H^2 = V_G / V_P$ ) é 0 (zero), uma vez que não existe variação genética nesta geração ( $H^2 = 0 / 2,32 = 0$ ). Isto significa que a variação genética total não contribui para a determinação da variação fenotípica dos indivíduos desta geração. Quanto à F2, o valor da herdabilidade sentido amplo é 0,55 ( $H^2 = 2,84 / 5,16 = 0,55$ ). Este valor de  $H^2$  revela que cerca da metade da variação fenotípica (55%) presente nesta população de indivíduos é determinada pela variação genética total.
- e) Para aumentar o número de folhas por plantas na próxima geração, poderíamos fazer cruzamentos utilizando apenas as plantas da F2 que apresentam os maiores números de folhas por planta (19 e 20, por exemplo). Dessa forma, esperamos que haja um aumento na média do número de folhas por planta na próxima geração, visto que esse caráter apresenta variação genética que pode, ou não, ser aditiva.
- f) O pressuposto para que consigamos um aumento efetivo no número médio de folhas por planta na próxima geração é que exista, nessa população de plantas, variação genética aditiva. Este é o tipo de variação genética que pode ser transmitida ao longo das gerações e que poderia causar um aumento significativo na média da próxima geração.
- g) O valor de  $H^2$  revela se existe variação genética na população estudada. Porém, essa estimativa não determina o quanto desta variação genética se deve à existência de variação genética aditiva e, portanto, não pode nos ajudar diretamente a prever a intensidade de resposta à seleção desse caráter. A estimativa mais adequada para esse objetivo seria a herdabilidade sentido restrito ( $h^2$ ), que determina, justamente, o quanto da variação fenotípica da população em questão é condicionada pela presença de variação genética aditiva entre os indivíduos.

4.

Estimativa	Comprimento da tibia	Comprimento do tarso
a) Variação fenotípica ( $V_F = V_{GA} + V_{GD} + V_{GI} + V_A + V_I$ )	42,60	39,70
b) Herdabilidade sentido amplo ( $H^2 = V_G / V_P$ )	0,60	0,69
c) Herdabilidade sentido restrito ( $h^2 = V_{GA} / V_P$ )	0,10	0,50

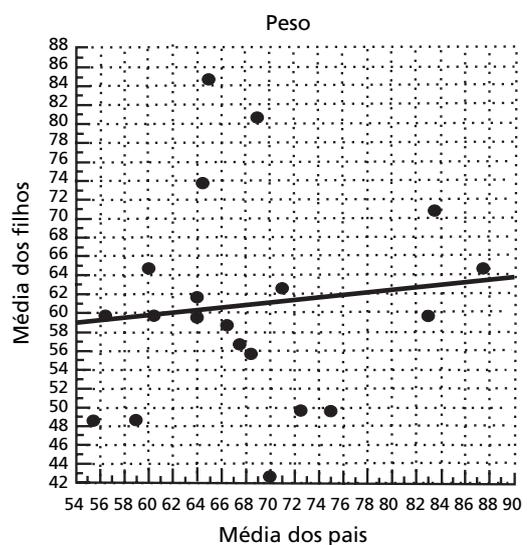
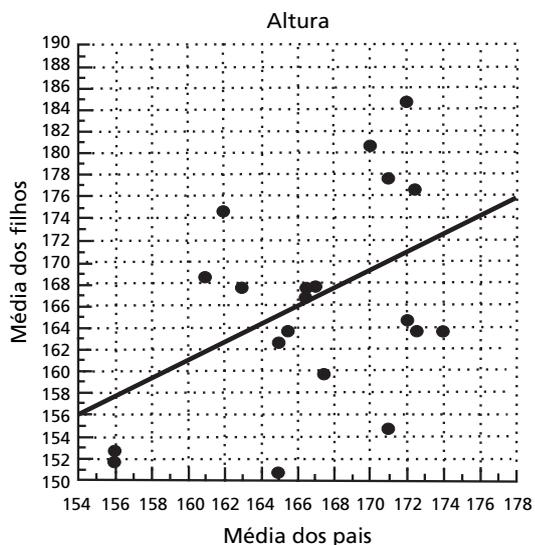
d) Para responder a esta pergunta precisamos comparar os valores de  $h^2$ , já que esta estimativa revela, para cada caráter, a existência de variação genética aditiva que pode levar a uma resposta efetiva à seleção. Como a estimativa de  $h^2$  para o caráter comprimento do tarso é bem maior do que a estimativa de  $h^2$  para o caráter comprimento da tíbia, podemos concluir que o caráter comprimento do tarso possui um maior potencial de resposta à seleção e que, portanto, poderia responder de maneira mais rápida a esse processo.

e) Os valores de  $H^2$  são sempre maiores do que os valores de  $h^2$  porque o cálculo das estimativas de  $H^2$  levam em consideração todos os tipos de variação genética, aumentando o numerador da razão variação genética / variação fenotípica. Por sua vez, o cálculo das estimativas de  $h^2$  só consideram a variação genética aditiva, levando a uma diminuição do numerador dessa razão e, conseqüentemente, do valor estimado.

5. As estimativas de herdabilidade apresentam limitações no que se refere à sua aplicação. Você viu na aula que os valores de  $h^2$  e  $H^2$  são calculados para uma população criada em um determinado ambiente, não podendo ser utilizados para outras gerações da mesma população nem para outras populações da mesma espécie, pelas seguintes razões:

- I. a variação genética de uma população é exclusiva, já que cada população possui um conjunto próprio de genótipos;
- II. a variação ambiental a que uma população está submetida é exclusiva, já que cada ambiente tem suas particularidades.

6. a)



- b) Para o caráter altura dos indivíduos,  $h^2 = 0,824$  ( $h^2 = b = COV_{xy} / V_x$ ), enquanto para o caráter peso dos indivíduos  $h^2 = 0,144$ .

Lembre-se de que  $b$  é o valor que determina a inclinação da reta de regressão. Deste modo, você pode analisar visualmente a diferença entre os valores de herdabilidade para os caracteres altura e peso dos indivíduos quando compara a inclinação das retas de regressão mostradas no item (a) deste mesmo exercício.

- c) Em termos de presença de variação genética aditiva, podemos dizer que, aproximadamente, 82% ( $0,824 \times 100$ ) da variação fenotípica observada para o caráter altura dos indivíduos é determinada pela variação genética aditiva presente nessa população, para esse caráter. Por sua vez, consideramos que apenas 14% ( $0,144 \times 100$ ) da variação fenotípica observada para o caráter peso dos indivíduos seja condicionada por sua variação genética aditiva.

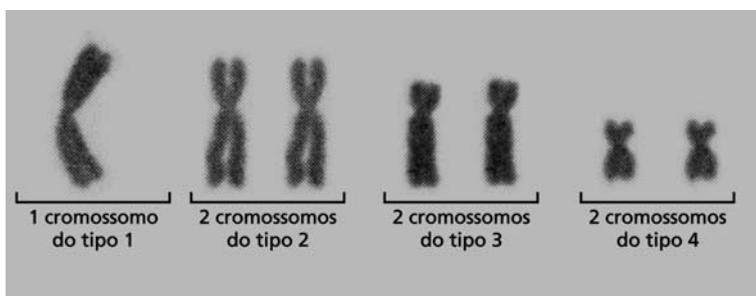
Dessa forma, podemos concluir que o caráter altura possui um potencial de resposta à seleção ( $h^2$ ) maior do que o potencial de resposta do caráter peso dos indivíduos. Por exemplo, se pudéssemos fazer uma seleção para o aumento da média desses caracteres, esperaríamos observar uma resposta bem mais rápida para a altura do que para o peso.

1. Poderíamos pegar um indivíduo  $aa$  e, utilizando a colquicina, induziríamos a formação de gametas com o número de cromossomos duplicado. Assim, o genótipo dos gametas deste indivíduo seria  $aa$  (gameta mutante duplicado), em vez de  $a$  (gameta normal haplóide). Ao fecundar este gameta mutante com os gametas normais de um indivíduo  $AA$  (gameta normal haplóide com genótipo  $A$ ), teríamos a formação de um zigoto triplóide com genótipo desejado ( $Aaa$ ).

2.. O híbrido formado possuía 9 cromossomos do rabanete e 9 cromossomos do repolho, portanto não havia homólogos para ocorrer o emparelhamento durante a meiose e, conseqüentemente, produzir gametas viáveis. Esses 18 cromossomos provavelmente passaram por um evento de duplicação. Os cromossomos agora duplicados emparelham-se na meiose. Dessa forma, formou-se o híbrido *Raphanobrassica* com 36 cromossomos que produzem gametas viáveis.

3- O daltonismo é um distúrbio recessivo ligado ao X. Deste modo, a mulher com síndrome de Turner e daltônica ( $X^d0$ ) deve ter obtido seu único cromossomo X de sua mãe normal heterozigótica ( $X^DX^d$ ), uma vez que tanto sua mãe quanto seu pai ( $X^DY$ ) possuem visão normal. Como ela não recebeu o cromossomo X paterno, podemos concluir que a não-disjunção ocorreu nas células meióticas de seu pai. No entanto, não podemos afirmar se a não-disjunção ocorreu na meiose I ou na meiose II, já que em ambos os casos podem ser produzidos gametas sem cromossomos sexuais. No caso do homem daltônico com síndrome de Klinefelter ( $XXY$ ), ambos os cromossomos X devem levar o alelo recessivo  $d$ , para que o daltonismo possa se manifestar ( $X^dX^dY$ ). Como seu pai era normal ( $X^DY$ ), podemos concluir que a não-disjunção ocorreu nas células meióticas de sua mãe normal heterozigótica ( $X^DX^d$ ). Neste caso, o evento de não-disjunção deve ter ocorrido durante a meiose II, quando os cromossomos ainda estão duplicados mas os homólogos já se segregaram (meiose I).

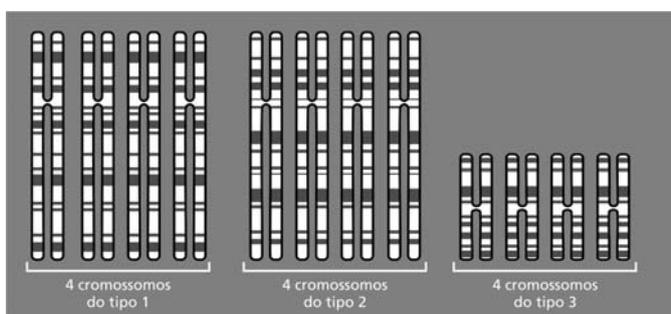
4- Como todos os cromossomos apresentados são autossômicos, podemos concluir que este indivíduo apresenta uma monossomia ( $2n - 1$ ), visto que possui três pares de cromossomos (tipos 2, 3 e 4) e um cromossomo sem par (tipo 1). O número de cromossomos em uma célula somática deste indivíduo pode ser definido como:  $2n - 1 = 7$ . Observe a montagem do cariótipo:



Esta aneuploidia pode ter sido causada por uma não-disjunção durante a meiose em um ancestral deste indivíduo, levando à perda do homólogo desse cromossomo de tamanho grande.

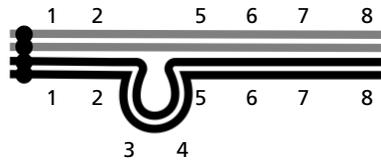
- 5- a) número básico de cromossomos:  $x = 3$  (3 tipos diferentes de cromossomos)
- b) número haplóide de cromossomos:  $n = 6$  (metade do nº de cromossomos da célula somática)
- c) ploidia: tetraplóide (4 cópias de cada tipo de cromossomo)
- d) o número de cromossomos em uma célula somática:  $2n = 4x = 12$  (nº de cromossomos existentes na célula somática)

Para que fique claro, observe a montagem do cariótipo dessa célula somática:

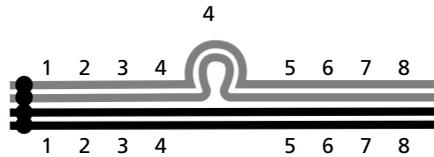


1. d; e; a; b; c; f; g; h
2. No heterozigoto formado, a expressão dos alelos d e e indicam a ocorrência de uma deleção no outro homólogo, incluindo os loci  $d^+$  e  $e^+$ , ocasionando o fenômeno de pseudodominância. Como metade da prole apresenta esse fenótipo, podemos supor que a deleção tenha ocorrido em um dos cromossomos do indivíduo selvagem. Todos os indivíduos que herdarem esse cromossomo (aproximadamente 50% da prole) expressarão os alelo d e e.

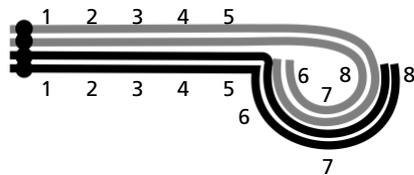
3. a) Deleção



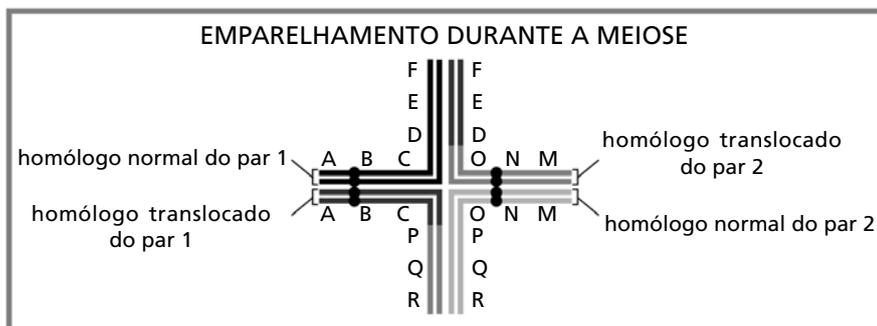
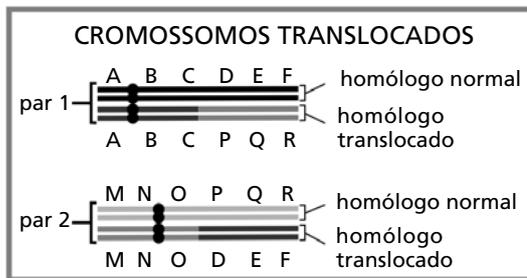
b) Duplicação



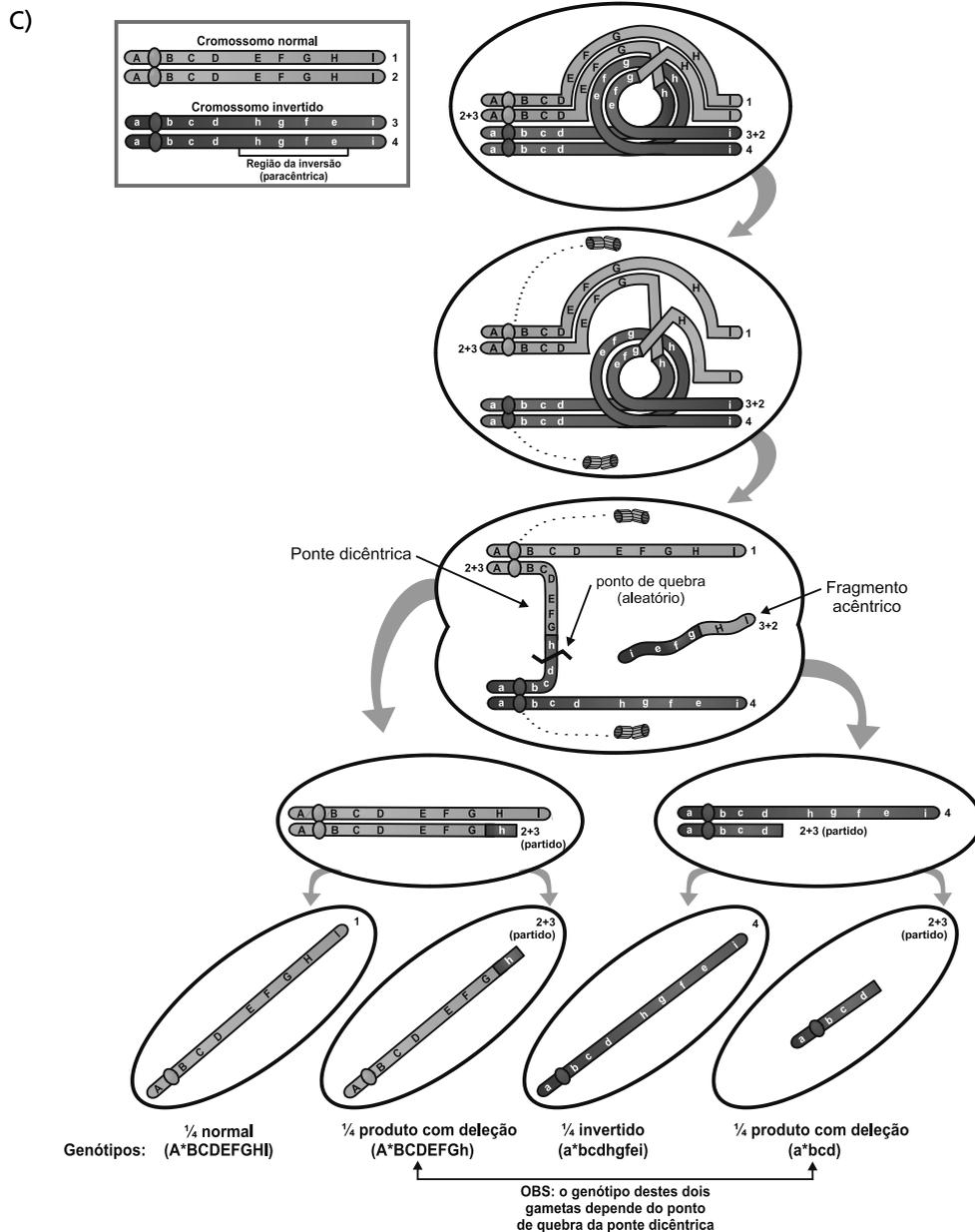
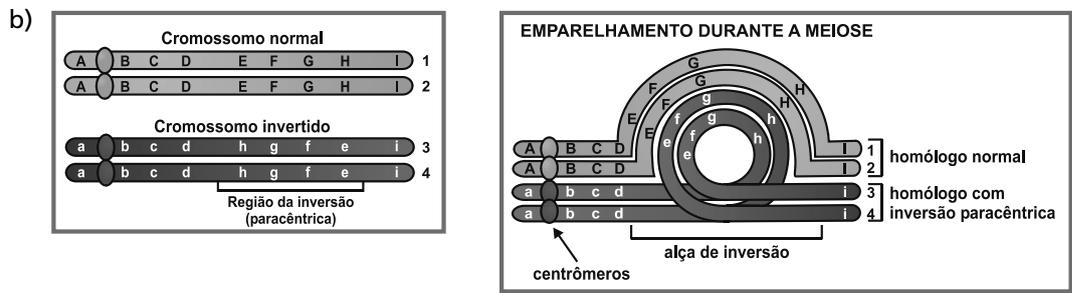
c) Uma inversão terminal



4.



5. a) Inversão paracêntrica, pois não inclui o centrômero

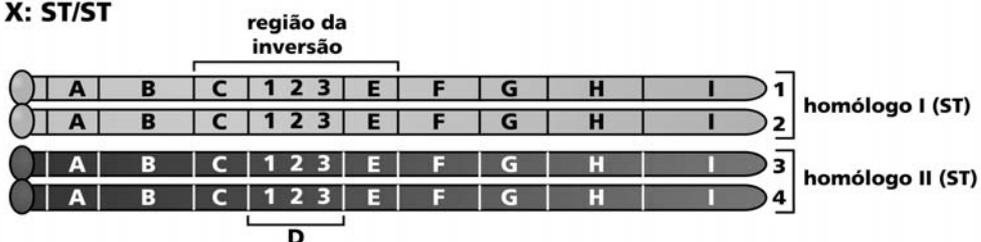


Após uma permuta dentro da alça de inversão, os gametas com arranjo parental (genótipos A\*BCDEFGHI ou a\*bcdhgefi) darão origem a descendentes viáveis. Os gametas recombinantes, no entanto, possuem regiões de deleção que podem causar inviabilidade da prole, dependendo da importância de cada gene e do local onde a cromátide foi rompida.

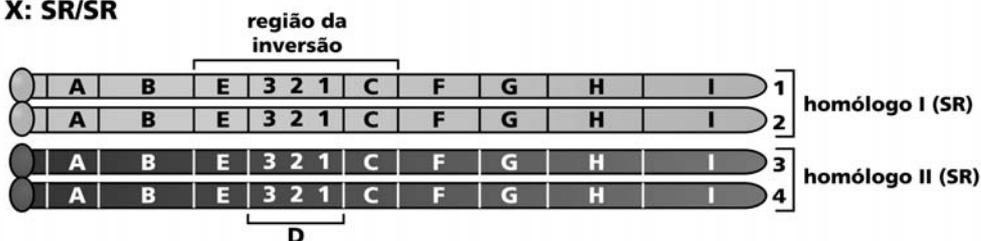
Aula 20

**EMPARELHAMENTO DOS HOMÓLOGOS PARA OS ARRANJOS ST/ST, SR/SR E ST/SR NO CROMOSSOMO X DE *Drosophila mediopunctata***

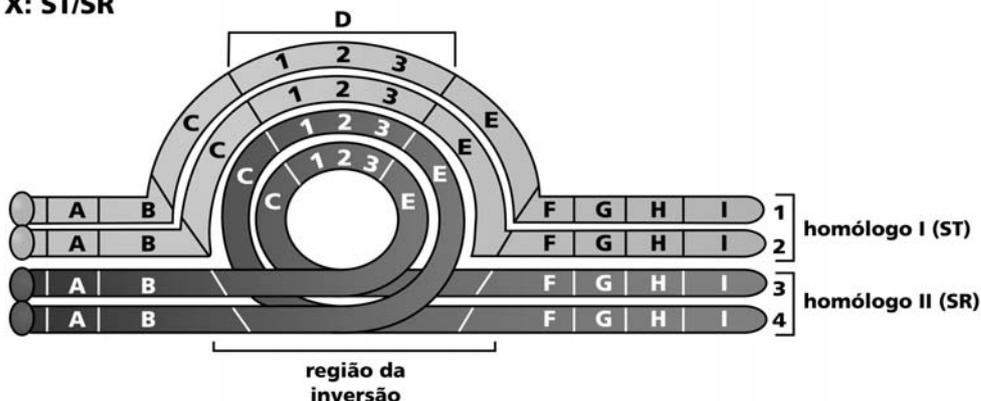
**X: ST/ST**



**X: SR/SR**



**X: ST/SR**





**Genética Básica**

---

Referências

---

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. *Molecular biology of the cell*. 4. ed. Nova York: Garland Science, 2002.

AMABIS, J. M.; MARTHO, G.R.; *Biologia das populações*. 1. ed. São Paulo: Moderna, 1995. v. 3.

ANANINA, G.; PEIXOTO, A.A.; SOUZA, W.N.; KLACZKO, L.B. Polytene chromosome map and inversion polymorphism in *Drosophila mediopunctata*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 2002, v. 97, pp. 1-4.

ATHERLY, A.G.; GIRTON, J.R.; MCDONALD, J.F. *The science of genetics*. 1. ed. Orlando: Saunders College Publishing, 1999.

BATESON, W.; SAUNDERS, E.R.; PUNNETT, R. C. *Experimental studies in the physiology of heredity*. Reports to the Royal Society II. Londres: Harrison and Sons, 1905.

BEIGUELMAN, B. Curso prático de bioestatística. 4.ed. rev. *Revista Brasileira de Genética*, 1996.

CREIGHTON, H.B.; MCCLINTOCK, B. A correlation of cytological and genetical crossing over in *Zea mays*. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1931, v. 17, pp. 492-497.

CUTTER, M. A. G. *et al. The human genome project: biology, computers, and privacy*. 1. ed. Colorado: BSCS, 1996.

FALCONER, D.S.; MACKAY, T.F.C. *Introduction to quantitative genetics*. 4. ed. Harlow: Longman, 1996.

GRIFFITHS, A.J.F.; MILLER, J.H.; SUZUKI, D.T.; LEWONTIN, R.C.; GELBART, W.M. *An introduction to genetic analysis*. 7. ed. Nova York: W. H. Freeman and Company, 2000.

GRIFFITHS, A.J.F.; GELBART, W.M.; LEWONTIN, R.C.; MILLER, J.H. *Modern genetic analysis*. 2.ed. Nova York: W. H. Freeman and Company, 2002.

JONES, R.N.; RICKARDS, G.K. *Practical genetics*. 1. ed. Buckingham: Open University Press, 1991.

MOORE, J. A. Science as a way of knowing III: genetics. *American society of zoologists*, 1986, v. 26, pp. 583-747.

NICHOLAS, F.W. *Introdução à genética veterinária*. 1. ed. Porto Alegre: ArtMed, 1999.

- NUSSBAUM, R.L.; MCINNES, R.R.; WILLARD, H.F. *Thompson & Thompson: Genética Médica*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara. Koogan, 2002.
- SNUSTAD, D.P.; SIMMONS, M. J. *Fundamentos de genética*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
- SOLOMON, E.P.; BERG, L.R.; MARTIN, D.W.; VILLE, C. *Biology*. 3. ed. Orlando: Saunders College Publishing, 1993.
- SOLOMON, E.P.; BERG, L.R.; MARTIN, D.W.; VILLE, C. *Biology*. 6. ed. Califórnia: Brooks/Cole Publishing Company, 2001.
- SUTTON, W.S. The chromosomes in heredity. *Biological Bulletin*, 1903, v. 4, pp. 231-251.
- THOMPSON, J.S.; THOMPSON, M.W. *Genética médica*. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara S.A., 1988.
- VOGUEL, F.; MOTULSKY, A.G. *Genética humana*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

