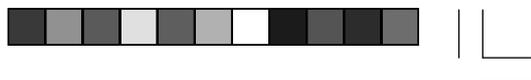




# GENÉTICA NA AGROPECUÁRIA







**Autores**

Magno Antonio Patto Ramalho  
João Bosco dos Santos  
César Augusto Brasil Pereira Pinto  
Elaine Aparecida de Souza  
Flávia Maria Avelar Gonçalves  
João Cândido de Souza



# GENÉTICA NA AGROPECUÁRIA

**5ª Edição Revisada**

**EDITORA**  
  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS  
Lavras - MG  
2012



© 2012 by Magno Antonio Patto Ramalho, João Bosco dos Santos, César Augusto Brasil Pereira Pinto, Elaine Aparecida de Souza, Flávia Maria Avelar Gonçalves e João Cândido de Souza Brasil Pereira Pinto. 5ª Edição Revisada - 2012.

Nenhuma parte desta publicação pode ser reproduzida, por qualquer meio ou forma, sem a autorização escrita e prévia dos detentores do copyright.

Direitos de publicação reservados à Editora UFLA.

Impresso no Brasil – ISBN: xxxxxxxxxxxxxx

## UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS

**Reitor:** Antônio Nazareno Guimarães Mendes

**Vice-Reitor:** José Roberto Soares Scolforo



### Editora UFLA

Campus UFLA - Pavilhão 6 - Nave 2

Caixa Postal 3037 – 37200-000 – Lavras – MG

Tel: (35) 3829-1532 – Fax: (35) 3829-1551

E-mail: [editora@editora.ufla.br](mailto:editora@editora.ufla.br)

Homepage: [www.editora.ufla.br](http://www.editora.ufla.br)

**Diretoria Executiva:** Renato Paiva (Diretor)

**Conselho Editorial:** Renato Paiva (Presidente), Brígida de Souza, Flávio Meira Borém, Joelma Pereira e Luiz Antônio Augusto Gomes

**Administração:** Sebastião Gonçalves Filho

**Secretaria Geral:** Mariana Coelho Alonso

**Comercial/Financeiro:** Glaucyane Paula Araujo Ramos e Quele Pereira de Gois

**Revisão de Texto:** Rose Mary Chalfoun Bertolucci

**Referências Bibliográficas:** Patrícia Carvalho de Moraes

**Editores Eletrônicos:** Fernanda Campos Pereira, Patrícia Carvalho de Moraes e Renata de Lima Rezende

**Capa:** Ernani Augusto de Souza Junior

### Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca da UFLA

XX

XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

1. XXXXXXXXXXXXXXXX 2. XXXXXXXXXXXXXXXX 3. XXXXXXXXXXXXXXXX

4. XXXXXXXXXXXXXXXX 5. XXXXXXXXXXXXXXXX I. XXXXXXXXXXXX.

CDD – xxxxxxxx



# PREFÁCIO

A aceitação do livro *Genética na Agropecuária* nas edições anteriores foi muito grande, estimulando a publicação dessa nova edição. Como a geração de novos conhecimentos científicos é enorme especialmente na Genética, é necessário que as publicações sejam constantemente revisadas e atualizadas. Nessa nova edição do livro procurou-se atualizar alguns temas.

Todos os seis autores são professores da disciplina de Genética de vários cursos de graduação da UFLA há longo tempo. Na abordagem dos temas utilizou-se dessa experiência dos autores para expor os mesmos de modo o mais didático possível. Procurou-se também utilizar de exemplos ligados à agropecuária. Deve ser enfatizado, contudo, que o conhecimento de genética obtido em qualquer organismo pode ser extrapolado para qualquer outro.

Enfatizamos que essa publicação é fruto da nossa experiência de ensino e, sobretudo por isso estamos ávidos por sugestões da comunidade acadêmica, professores, alunos de graduação e pós-graduação, que possam melhorar o conteúdo ou o modo de apresentação das nossas futuras edições.

Os autores





# SUMÁRIO

<b>1 IMPORTÂNCIA DO ESTUDO DA GENÉTICA.....</b>	<b>13</b>
1.1 INTRODUÇÃO.....	13
1.2 A GENÉTICA E SUA IMPORTÂNCIA.....	15
<b>2 VARIAÇÃO E SEU SIGNIFICADO BIOLÓGICO.....</b>	<b>23</b>
2.1 INTRODUÇÃO.....	23
2.2 CONSERVAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA.....	25
2.3 CONSERVAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA NO BRASIL.....	28
2.4 CONSERVAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA NO MUNDO.....	30
PROBLEMAS PROPOSTOS.....	33
<b>3 GENÉTICA MOLECULAR.....</b>	<b>35</b>
3.1 INTRODUÇÃO.....	35
3.2 NATUREZA QUÍMICA DO MATERIAL GENÉTICO.....	35
3.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ESTRUTURA DOS ÁCIDOS NUCLÉICOS.....	41
3.4 FUNÇÕES DO MATERIAL GENÉTICO.....	50
3.5 MANIFESTAÇÃO FENOTÍPICA.....	76
3.6 ORIGEM DA VARIABILIDADE GENÉTICA.....	77
3.7 GENES, ALELOS E DNA.....	82
PROBLEMAS PROPOSTOS.....	84
<b>4 ORGANIZAÇÃO DO MATERIAL GENÉTICO E DIVISÃO CELULAR.....</b>	<b>87</b>
4.1 INTRODUÇÃO.....	87
4.2 DIVISÃO CELULAR.....	93

4.3 CONSEQUÊNCIAS GENÉTICAS DA MITOSE.....	97
4.4 FORMAÇÃO DOS GAMETAS.....	98
4.5 CONSEQUÊNCIAS GENÉTICAS DA MEIOSE.....	108
PROBLEMAS PROPOSTOS.....	111
<b>5 MENDELISMO.....</b>	<b>113</b>
5.1 INTRODUÇÃO.....	113
5.2 ETAPAS NO ESTUDO DO CONTROLE GENÉTICO DE UM CARÁTER.....	113
5.3 CONCEITOS COMUMENTE UTILIZADOS PELOS GENETICISTAS.....	119
5.4 ESTUDO DO CONTROLE GENETICO EM ANIMAIS.....	120
5.5 LEI DA DISTRIBUIÇÃO INDEPENDENTE.....	123
5.6 GENERALIZAÇÕES DAS PROPORÇÕES MENDELIANAS.....	126
5.7 MODO PRÁTICO PARA DETERMINAÇÃO DOS GAMETAS E DOS DESCENDENTES DE CRUZAMENTOS.....	127
PROBLEMAS PROPOSTOS.....	135
<b>6 INTERAÇÕES ALÉLICAS E NÃO-ALÉLICAS.....</b>	<b>141</b>
6.1 INTRODUÇÃO.....	141
6.2 INTERAÇÕES ALÉLICAS.....	141
6.3 INTERAÇÕES NÃO-ALÉLICAS OU GÊNICAS.....	148
6.4 AUMENTANDO A COMPLEXIDADE.....	161
PROBLEMAS PROPOSTOS.....	164
<b>7 BIOMETRIA.....</b>	<b>167</b>
7.1 INTRODUÇÃO.....	167
7.2 LEIS DE PROBABILIDADE.....	167
7.3 DISTRIBUIÇÃO DE PROBABILIDADE.....	169
7.4 PROBABILIDADE DE SE OBTER UMA DETERMINADA COMBINAÇÃO GENOTÍPICA.....	175
7.5 TESTE DE SIGNIFICÂNCIA - TESTE $\chi^2$ .....	177
PROBLEMAS PROPOSTOS.....	182
<b>8 ALELISMO MÚLTIPLO.....</b>	<b>185</b>

8.1 ALELISMO MÚLTIPLO E A VARIABILIDADE DAS POPULAÇÕES.....	185
8.2 EXEMPLOS DE ALELISMO MÚLTIPLO EM ANIMAIS.....	187
8.3 EXEMPLOS DE ALELISMO MÚLTIPLO EM PLANTAS.....	192
8.4 TESTE DE ALELISMO.....	201
PROBLEMAS PROPOSTOS.....	204
<b>9 LIGAÇÃO, PERMUTA GENÉTICA E PLEIOTROPIA.....</b>	<b>207</b>
9.1 INTRODUÇÃO.....	207
9.2 ESTIMATIVA DA FREQUÊNCIA DE RECOMBINAÇÃO (FR).....	210
9.3 BASES CROMOSSÔMICAS DA PERMUTA.....	214
9.4 PROVA CITOGENÉTICA DA OCORRÊNCIA DA PERMUTA.....	215
9.5 MAPA GENÉTICO.....	216
9.6 PLEIOTROPIA.....	226
9.7 CORRELAÇÃO GENÉTICA E SELEÇÃO INDIRETA.....	228
PROBLEMAS PROPOSTOS.....	230
<b>10 EFEITOS DO AMBIENTE NA EXPRESSÃO GÊNICA.....</b>	<b>235</b>
10.1 INTRODUÇÃO.....	235
10.2 EFEITOS DO AMBIENTE NA MANIFESTAÇÃO FENOTÍPICA.....	235
10.3 PENETRÂNCIA E EXPRESSIVIDADE.....	239
10.4 INTERAÇÃO GENÓTIPOS X AMBIENTES.....	241
10.5 ESTIMATIVAS DE CONTRIBUIÇÃO DO EFEITO DOS GENÓTIPOS, AMBIENTES E DA INTERAÇÃO GENÓTIPOS X AMBIENTES.....	224
PROBLEMAS PROPOSTOS.....	247
<b>11 HERANÇA E SEXO.....</b>	<b>251</b>
11.1 INTRODUÇÃO.....	251
11.2 DETERMINAÇÃO DO SEXO PELAS CONDIÇÕES AMBIENTAIS.....	251
11.3 DETERMINAÇÃO GENÉTICA DO SEXO.....	252
11.4 GENES MASCULINIZANTES E FEMINILIZANTES.....	255

11.5 EVOLUÇÃO DOS CROMOSSOMOS SEXUAIS.....	257
11.6 DETERMINAÇÃO DO SEXO EM ABELHAS.....	258
11.7 GINANDROMORFOS.....	259
11.8 DETERMINAÇÃO DO SEXO EM PLANTAS.....	261
11.9 HEREDITARIEDADE EM RELAÇÃO AO SEXO.....	262
PROBLEMAS PROPOSTOS.....	268
<b>12 GENÉTICA QUANTITATIVA.....</b>	<b>271</b>
12.1 INTRODUÇÃO.....	271
12.2 HIPÓTESE DOS FATORES MÚLTIPLOS – POLIGENES.....	271
12.3 INTERAÇÕES ALÉLICAS.....	279
12.4 PREDIÇÃO DA MÉDIA DE UM CARÁTER EM POPULAÇÕES OBTIDAS POR CRUZAMENTO.....	291
12.5 EMPREGO DE VARIÂNCIA NO ESTUDO DOS CARACTERES QUANTITATIVOS.....	300
PROBLEMAS PROPOSTOS.....	312
<b>13 GENÉTICA DE POPULAÇÕES.....</b>	<b>317</b>
13.1 INTRODUÇÃO.....	317
13.2 FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS.....	317
13.3 EQUILÍBRIO GENOTÍPICO DAS POPULAÇÕES.....	319
13.4 TESTE DE EQUILÍBRIO DE HARDY-WEINBERG.....	321
13.5 ESTIMATIVA DAS FREQUÊNCIAS ALÉLICAS COM DOMINÂNCIA COMPLETA.....	321
13.6 FATORES QUE ALTERAM AS FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DE UMA POPULAÇÃO.....	322
PROBLEMAS PROPOSTOS.....	335
<b>14 ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS.....</b>	<b>337</b>
14.1 INTRODUÇÃO.....	337
14.2 ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS NUMÉRICAS.....	337
14.3 ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS ESTRUTURAIS.....	347
PROBLEMAS PROPOSTOS.....	362
<b>15 TEORIA SINTÉTICA DA EVOLUÇÃO.....</b>	<b>367</b>

15.1 INTRODUÇÃO.....	367
15.2 PROCESSO QUE CRIA VARIABILIDADE – MUTAÇÃO.....	367
15.3 PROCESSOS QUE AMPLIAM A VARIABILIDADE.....	368
15.4 PROCESSOS QUE ORIENTAM AS POPULAÇÕES PARA MAIOR ADAPTAÇÃO.....	370
15.5 ESPECIAÇÃO.....	376
15.6 CONCEITO DE ALGUNS TERMOS.....	378
<b>16 EFEITO MATERNO E HERANÇA EXTRACROMOSSÔMICA..</b>	<b>379</b>
16.1 INTRODUÇÃO.....	379
16.2 EFEITO MATERNO.....	379
16.3 HERANÇA EXTRACROMOSSÔMICA.....	382
16.4 DIFERENÇA ENTRE EFEITO MATERNO E HERANÇA EXTRACROMOSSÔMICA.....	390
PROBLEMAS PROPOSTOS.....	391
<b>17 BIOTECNOLOGIA.....</b>	<b>395</b>
17.1 INTRODUÇÃO.....	395
17.2 TÉCNICAS BIOTECNOLÓGICAS APLICADAS AOS VEGETAIS.....	395
17.3 TÉCNICAS BIOTECNOLÓGICAS APLICADAS AOS ANIMAIS DOMÉSTICOS.....	412
PROBLEMAS PROPOSTOS.....	418
<b>18 MARCADORES MOLECULARES.....</b>	<b>421</b>
18.1 INTRODUÇÃO.....	421
18.2 MARCADORES MORFOLÓGICOS.....	421
18.3 MARCADORES MOLECULARES.....	422
18.4 EMPREGO DOS MARCADORES MOLECULARES.....	445
PROBLEMAS PROPOSTOS.....	473
<b>19 REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA.....</b>	<b>477</b>
19.1 INTRODUÇÃO.....	477
19.2 PROCARIOTOS.....	478
19.3 EUCARIOTOS.....	488



<b>RESPOSTAS DOS PROBLEMAS PROPOSTOS.....</b>	<b>501</b>
<b>GLOSSÁRIO.....</b>	<b>525</b>
<b>BIBLIOGRAFIA COMPLEMENTAR.....</b>	<b>555</b>



# 1 IMPORTÂNCIA DO ESTUDO DA GENÉTICA

## 1.1 INTRODUÇÃO

Genética é o estudo de dois fenômenos distintos: a hereditariedade e a variação. A **hereditariedade** é o fenômeno pelo qual os descendentes se assemelham aos seus ascendentes. Como será visto, no transcorrer da leitura desta publicação a informação para expressão fenotípica dos diferentes caracteres é passada de pais para filhos por meio dos gametas. Em contrapartida, a **variação** pode ser definida como sendo todas as diferenças ambientais ou genéticas entre os organismos relacionados pela descendência. Dessa forma, as variações tanto podem ser decorrentes exclusivamente do meio e, portanto, não hereditárias, como também podem ser produzidas por alterações na constituição genética, sendo, nesse caso, hereditárias.

Aparentemente, a hereditariedade e a variação são forças antagônicas. Isso porque, enquanto a hereditariedade está relacionada com a semelhança entre os indivíduos no decorrer das gerações, a variação faz com que os indivíduos sejam diferentes. Embora antagônicas nesse aspecto, a hereditariedade e a variação são forças que se completam, pois, se por um lado a variação permite que existam diferenças sobre as quais atua a seleção havendo o melhoramento e evolução, por outro lado, o resultado da seleção só será positivo, ou seja, será mantido, se a variação sobre a qual ela atuou for herdável.

É bem provável que a genética tenha despertado a atenção do homem há muitos e muitos anos. Existem evidências de que há 10 mil anos, o homem já se preocupava com a seleção de plantas e animais para sua sobrevivência. Muitas hipóteses foram formuladas para explicar a transmissão das características hereditárias ao longo do tempo. Porém, a genética recebeu seu maior impulso por meio dos trabalhos do monge agostiniano Gregor Mendel (Figura 1.1), realizados no final do século XIX e que receberam crédito apenas no início do século XX.

Há relatos de inúmeros outros pesquisadores antes de Mendel que tentaram elucidar as bases da hereditariedade, sem, contudo obterem sucesso. Há algumas razões para o êxito de Mendel, entre elas: a) A escolha do material experimental. Ele trabalhou com ervilha, uma planta de ciclo curto, descendência numerosa e que ocupa pequeno espaço; b) Estudou vários caracteres da ervilha, em realidade sete, visando a ter certeza dos resultados obtidos; c) Foi

## Genética na Agropecuária

persistente em conduzir o trabalho e em defender suas idéias, que eram diferentes de tudo que ocorria na época. É de se imaginar a sua angústia, como monge, tentando explicar os seus resultados a cientistas famosos da época.

Infelizmente, o trabalho de Mendel só foi reconhecido em 1900, 16 anos após a sua morte (1884), quando três pesquisadores: De Vries, Correns e Tschermak, independentemente, mostraram que a teoria do monge Agostiniano era correta. Assim, 1900 foi considerado o marco zero, ou o ano do nascimento da genética. É por essa razão que ela é conhecida como uma ciência do século XX.

A genética é, portanto, uma ciência relativamente nova, mas que tem evoluído espetacularmente, sobretudo porque despertou a atenção de vários ramos do conhecimento humano. Estima-se que o tempo necessário para dobrar o conhecimento científico é de cerca de dez anos, mas esse tempo é de apenas cinco anos para as ciências biológicas e, no caso específico da genética, é de pouco mais de um ano.



**FIGURA 1.1.** Johannes Gregor Mendel. Filho de agricultores, nasceu na cidade de Brno, em 22 de julho de 1822. Aos 25 anos entrou para um mosteiro, onde pôde continuar seus estudos em Zoologia, Botânica, Física e Matemática. Em 1857, com cerca de 35 anos, iniciou em uma pequena área do convento os seus trabalhos de hibridação com ervilha, que duraram cerca de 6 anos e contribuíram decisivamente para elucidar os princípios da transmissão das informações hereditárias (Freire Maia, 1995).

Nos seus primeiros anos, a genética se preocupou em conhecer o controle genético dos caracteres. Porém, a partir dos anos 50 foram intensificadas as pesquisas sobre a natureza química do gene, seu funcionamento e regulação que contribuíram para o desenvolvimento de uma nova área, a genética molecular e uma das tecnologias geradas é a do DNA recombinante.

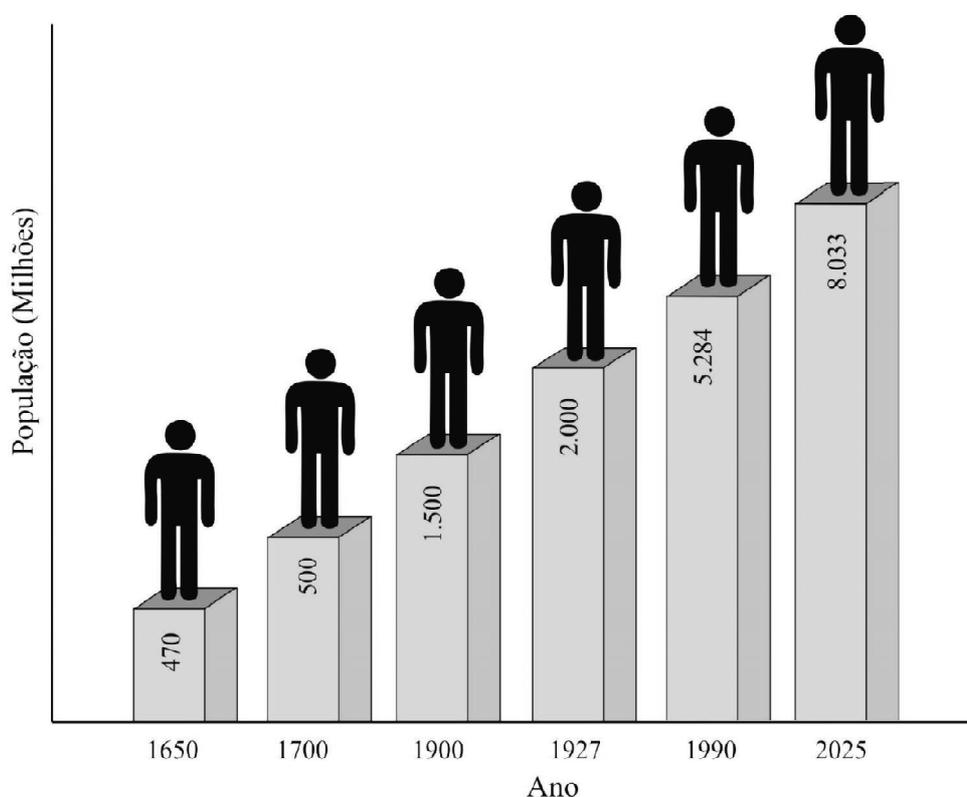
## 1.2 A GENÉTICA E SUA IMPORTÂNCIA

A genética é uma das ciências que foi, é e será a que mais tem contribuído para o bem estar da humanidade. Para evidenciar esse fato, os dados do crescimento populacional são uma boa prova. Na figura 1.2, pode-se observar o que ocorreu com o crescimento da população ao longo do tempo e o que é estimado até 2025. Para se ter uma melhor ideia do que isso representa atualmente, a cada segundo nascem três novos habitantes. Em um dia, a população do planeta é acrescida de 240 mil habitantes. Quais as consequências do crescimento populacional dessa magnitude? Serão inúmeras as consequências, entre elas pode-se citar: i) incremento nos problemas de saúde da população. ii) a demanda por alimento será crescente. iii) as questões ambientais principalmente relacionadas ao consumo de água, produção de lixo e muitos outros irão acentuar. iv) aumento da competição no mercado de trabalho, entre outros. A genética contribuiu e continuará contribuindo na solução desses problemas. No caso da saúde, por exemplo, quanto maior a densidade demográfica mais fácil é a disseminação dos agentes patogênicos e as epidemias são muito mais frequentes. Não é o objetivo dessa publicação enfatizar a genética médica, contudo, vale salientar que, atualmente, há evidências de que praticamente todas as patologias são hereditárias. Não é sem propósito, que entre as áreas da genética, a médica é a que mais cresce e possui uma maior contingente de profissionais envolvidos no seu estudo.

Até na questão do saneamento básico, a genética contribuiu e terá participação decisiva no futuro. Alguns organismos já foram selecionados visando à despoluição de áreas contaminadas. Essa é uma área em que as perspectivas da genética em contribuir na redução do impacto ambiental é enorme.

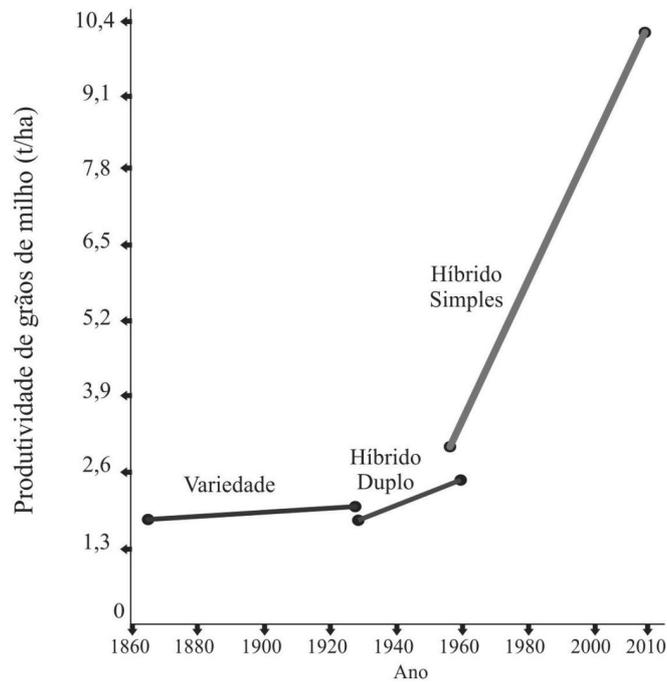
Nesse momento, o que interessa é mostrar a participação da genética na solução dos problemas decorrentes da demanda de alimentos, fibras e biocombustível. Não é difícil imaginar o consumo diário de alimentos de uma população superior a 8 bilhões de habitantes em 2025.

Além do mais, o crescimento populacional ocorre especialmente nos centros urbanos. O que se espera é que a grande maioria da população se concentre em cidades com mais de 100 mil habitantes e que, apenas uma parcela se dedique à produção de alimentos primários. Isso indica que, além da necessidade de produzir uma maior quantidade de alimentos, essa atividade será realizada por um contingente de agricultores, proporcionalmente, bem inferior ao existente nos dias de hoje.



**FIGURA 1.2.** Crescimento da população humana a partir de 1650 e sua projeção para o ano de 2025.

Esses dados só não são mais dramáticos porque a experiência do passado possibilita afirmar que o homem dispõe de tecnologia para produzir alimentos na quantidade e qualidade necessárias para atender às necessidades da população. Dentre as tecnologias que contribuíram e deverão continuar contribuindo para o aumento na produção de alimentos, o melhoramento genético de plantas e animais se destaca. Nesse aspecto, são conhecidos muitos exemplos da contribuição efetiva do melhoramento genético. Entre os inúmeros casos, um dos mais expressivos foi a produção de milho híbrido, iniciada com os trabalhos de G.H. Shull, E.M. East e D.J. Jones, nas duas primeiras décadas do século XX. Até 1940, quando os primeiros híbridos foram recomendados aos agricultores, a produtividade foi praticamente a mesma (Figura 1.3). A partir daí, o crescimento em produtividade foi espetacular. Em Minnesota (EUA), por exemplo, a produtividade passou de 2010 kg/ha em 1930, para aproximadamente 10.000 kg/ha em 2010.

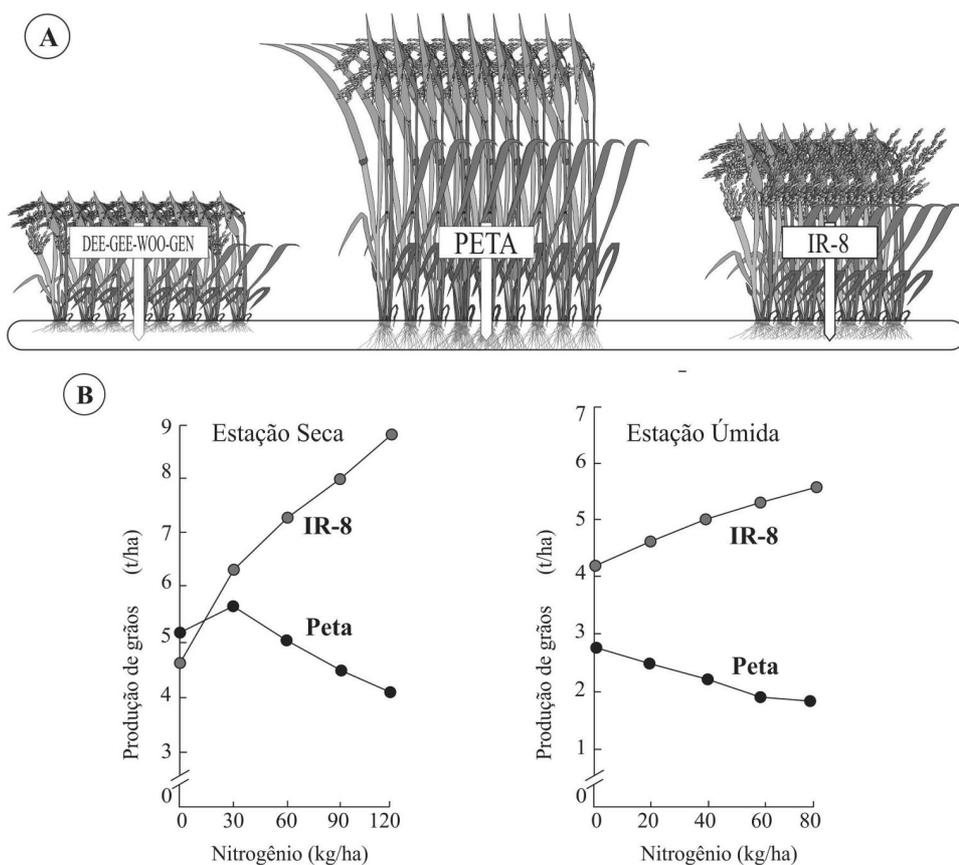


**FIGURA 1.3.** Dados da produtividade de grãos de milho (t/ha) de 1860 a 2008 nos Estados Unidos.

Esse expressivo aumento na produtividade pode ser atribuído à melhoria de uma série de práticas culturais; porém, o melhoramento genético, pela inclusão do milho híbrido no sistema produtivo, foi responsável por cerca de 58% desse ganho em produtividade. Se for considerado que só os Estados Unidos produzem atualmente mais de 260 milhões de toneladas/ano de milho, é fácil deduzir a importância social e econômica do aprimoramento genético obtido.

O melhoramento genético das plantas tem sido realizado de várias formas, como, por exemplo, a introdução de alelos de resistência a pragas e doenças, às condições adversas de solo e clima e também melhorando a arquitetura da planta. Nesse último aspecto, destacou-se um trabalho realizado com a cultura do arroz, que foi fundamental no que se denominou de revolução verde e contribuiu para que a partir de 1960, quando a população do planeta sofreu o seu maior crescimento, não houvesse falta desse importante alimento. O cultivo do arroz, em quase todo planeta é realizado sob o sistema de inundação. Até 1960, uma das cultivares mais utilizadas era a PETA que tinha porte alto. Para incrementar a produção de grãos por área, era necessário utilizar doses crescentes de fertilizantes nitrogenados. Contudo, quando essas plantas de porte alto recebiam doses crescentes de nitrogênio, o crescimento vegetativo era excessivo e elas acamavam, colocando os grãos em contato com a água. Nessa situação, a produtividade de grãos reduzia, ao invés de aumentar como era de se esperar (Figura 1.4). Os geneticistas encontraram uma linhagem que crescia pouco, planta

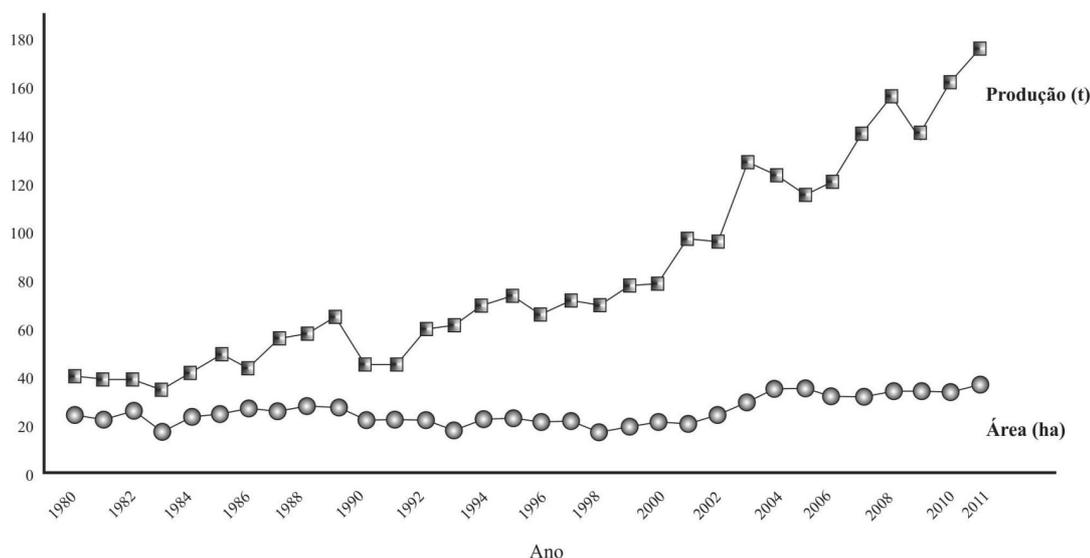
baixa, DEE-GEE-WOO-GEN. A produtividade dessa linhagem era muito baixa, impossibilitando o seu uso comercial. Em cruzamento, contudo, com a PETA possibilitou a obtenção de plantas de porte intermediárias e muito produtivas. Desse trabalho, foi obtida, por exemplo, a cultivar IR-8, que, ao contrário da PETA, apresentava grande resposta ao fertilizante nitrogenado, sem acamar, permitindo obter enorme produtividade de grãos por área, tão necessária em várias regiões do planeta em que a demanda por arroz era grande e a área agrícola era escassa, tais como: China, Filipinas e muitos outros países.



**FIGURA 1.4.** A obtenção da cultivar IR-8, (A) proveniente do cruzamento da Peta, muito alta e a DEE-GEE-WOO-GEN, muito baixa. (B) comparação da performance das cultivares de arroz PETA e IR-8 em doses crescentes de nitrogênio, tanto em ano agrícola com pouca ou muita precipitação (chuva). Fonte: Chrispeels e Sadava (1994).

A contribuição do melhoramento genético no Brasil também foi decisiva. O país apresentou a maior taxa de crescimento no século XX, quando a população aumentou 10 vezes. No entanto, o incremento em produtividade em grãos por área, possibilitou que não só fosse possível alimentar toda a população como também houve grande excedente exportável com praticamente a mesma área agrícola (Figura 1.5).

## Importância do Estudo da Genética



**FIGURA 1.5.** Produção (milhões de toneladas) e área colhida de grãos (milhões de hectares) no Brasil. (IBGE, 2011).

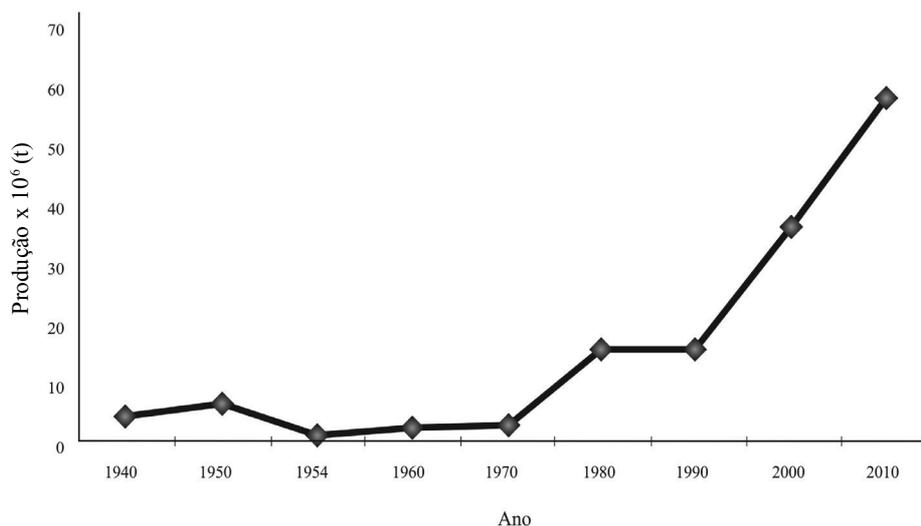
Apenas para exemplificar, será considerado o caso da soja. Essa leguminosa até 1970 concentrava-se no sul do Brasil. Isso porque, a soja é uma espécie originária da China, domesticada e cultivada sob condições de dias longos, isto é, mais de 18 horas de luz. Quando as cultivares existentes antes de 1970, eram cultivadas mais próximas do equador em que o comprimento do dia é próximo de 12 horas, floresciam precocemente sem as plantas atingirem um bom desenvolvimento vegetativo. Como consequência, a produtividade por área era muito baixa, impedindo o seu cultivo comercialmente. Geneticistas brasileiros, conseguiram selecionar plantas com período juvenil longo. Essas plantas, mesmo com dias curtos, vegetam primeiro, atingem um bom crescimento, e só então iniciam o florescimento. Nessa condição, a produtividade obtida é economicamente viável.

Além desse caráter, os geneticistas selecionaram plantas mais adaptadas a regiões sob vegetação de cerrado. Por exemplo, foram selecionadas estirpes de *Rhizobium* adaptadas ao cultivo de solo de cerrado. Como resultado desses esforços, não se empregam mais fertilizantes nitrogenados no cultivo da soja no Brasil e a produção passou de pouco mais de 2 milhões de toneladas em 1970 para próximo de 60 milhões na safra de 2009/2010. Aumento de praticamente 30 vezes em 30 anos (Figura 1.6). Adicionalmente ocorreu a economia de fertilizantes nitrogenados que é atualmente superior a 4 milhões de toneladas.

O eucalipto, outra espécie exótica, é um exemplo de muito sucesso obtido por pesquisadores brasileiros. Em 1960, a produtividade era de 20 m<sup>3</sup>/ha/ano de madeira, atualmente ela é superior a 45 m<sup>3</sup>/ha/ano. A produtividade de celulose que era 5,8t/ha/ano passou para mais de 11t/ha/ano. Esse excepcional incremento em um período tão curto foi

## Genética na Agropecuária

decorrente da melhoria do manejo e, sobretudo, ao melhoramento genético. Foram selecionados os indivíduos superiores e que foram perpetuados por meio de propagação assexuada, (clone).



**FIGURA 1.6.** Evolução da produção de soja no Brasil.  
Fonte: IBGE (2009).

Todas as informações disponíveis apontam que a agricultura brasileira será responsável não só para atender ao mercado interno de alimentos, fibras e biocombustível, mas também o mercado externo. Isso porque em vários países em que a população é crescente, não existem mais possibilidades de incrementos na produção de produtos vegetais.

No caso dos animais, a contribuição do melhoramento genético também teve o mesmo sucesso obtido com as plantas. O melhoramento das aves, por exemplo, proporcionou a obtenção de novos híbridos, tanto visando à produção de carne como à de ovos, que contribuíram para uma verdadeira revolução na avicultura. Como prova disso, as companhias de melhoramento genético de aves conseguiram aumentar o peso médio das aves de 1.500 g aos 105 dias, em 1930, para 2.300 g aos 42 dias, em 2008. Como pode ser observado, o melhoramento genético proporcionou aumento de 53% no peso médio das aves e, principalmente, redução de 63 dias no período para estarem em condição de serem abatidas. Simultaneamente, a conversão alimentar passou de 3,50:1 para 1,88:1. Em se tratando de postura, a melhoria da eficiência das aves foi equivalente, ou superior àquela obtida para a produção de carne. As aves caipiras - não melhoradas - produzem, em média, 60 a 80 ovos /ave/ano, ao passo que as aves melhoradas estão produzindo 270 ovos/ave/ano. Esses dados mostram que o melhoramento genético possibilitou uma verdadeira revolução na exploração avícola, permitindo que os produtos da avicultura se

tornassem mais competitivos no mercado. O Brasil é atualmente o principal exportador de carnes e ovos, mas ainda pode e deve desenvolver o melhoramento genético das aves, reduzindo a necessidade da importação de matrizes de outros países.

A bovinocultura brasileira, tanto de leite como de carne, também apresentou enorme crescimento nos últimos anos. Na tabela 1.1, mostra-se a participação de alguns países na produção de carne bovina. Veja que o Brasil é o segundo maior produtor e é, atualmente, o principal exportador de carne do planeta. Isso foi possível em razão da melhoria do manejo, dos aspectos de sanidade animal e, sobretudo, ao melhoramento genético. Nesse último aspecto, vale salientar que o Brasil exporta matrizes selecionadas para inúmeros países, evidenciando o trabalho realizado em melhoramento genético animal no país.

**TABELA 1.1.** Principais países produtores e exportadores de carne bovina no período de 2001 a 2007. (Dados 1.000 toneladas equivalente de carcaça).

País Produtores	2001	2007	% do mercado
EUA	11.983	12.096	20,0
Brasil	6.895	9.470	15,7
União Européia	8.346	8.175	13,5
China	5.503	7.494	12,4
Argentina	2.640	3.200	5,3
Índia	1.770	2.500	4,1
México	1.925	2.200	3,6
Austrália	2.049	2.197	3,6
Mundo	53.377	60.437	100,0

País Exportadores	2001	2007	% do mercado
Brasil	741	2.189	28,8
Austrália	1.376	1.400	18,4
Índia	365	735	9,7
EUA	1.029	649	8,5
Argentina	169	532	7,0
Total	5.842	7.605	100,00

Fonte: Agroanalysis (2008).

A importância da genética não se limita ao melhoramento genético de plantas e animais. Várias contribuições são também conhecidas em outras áreas, como na medicina. O caso da produção de penicilina ilustra bem esse fato, uma vez que a linhagem original de *Penicillium chrysogenum*, utilizada por Fleming, produzia 2mg/l de penicilina, enquanto as linhagens melhoradas atuais produzem 20g/l, ou seja, um aumento 10 mil vezes em relação à produção original.

Com o advento da biotecnologia especialmente a tecnologia do DNA recombinante e a genômica, contribuições importantes ocorreram, tais como: a produção de insulina e do hormônio de crescimento somatostatina. A maior eficiência da produção desses produtos permitiu atender à demanda mundial que é crescente e a um preço muito mais acessível. No caso das plantas a introdução da resistência ao herbicida glifosato e a vários insetos (Bt), ambos os genes encontrados em bactérias do solo, para plantas de soja, milho e outros vegetais, tem melhorado sensivelmente o manejo das culturas.

A esperança é que em breve, algumas plantas e/ou animais domésticos possam ser transformados em verdadeiras fábricas de medicamentos. Esse fato já vem ocorrendo no caso de ovelhas transgênicas que produzem uma proteína terapêutica, antitrombina humana, que já é comercializada nos EUA e Europa. Pesquisadores da região nordeste do Brasil, utilizando caprinos transgênicos estão trabalhando ativamente na produção de proteína humana. O consumo de leite dessas cabras pelas populações mais carentes, poderá suprir as necessidades dos indivíduos, sobretudo de certas proteínas que são deficientes em algumas crianças.

Em 1997, foi divulgado o primeiro caso de clonagem em animais - a obtenção da ovelha Dolly, por geneticistas escoceses. Pouco tempo depois geneticistas brasileiros conseguiram clonar o primeiro bovino, que foi denominado de Vitória. Essas descobertas mostram, mais uma vez, a capacidade criativa do homem e vislumbra várias possibilidades de que os cientistas, conscientes da sua responsabilidade, poderão no futuro desenvolver inúmeras tecnologias que, certamente, permitirão que muitas realizações da genética, atualmente consideradas como ficção, tornem-se realidade.

O sequenciamento do DNA-genoma, de várias espécies é atualmente uma rotina. Esse fato permite vislumbrar inúmeras contribuições não só em termos de conhecimento científico da atuação dos genes, como de aplicação tecnológica, visando à melhoria do padrão de vida da sociedade humana nunca antes imaginada.

Finalmente, é meritório comentar que o papel dos geneticistas que desenvolveram pesquisas relacionadas com a agropecuária tem sido reconhecido pela sociedade em várias ocasiões. Tanto é assim que geneticistas já foram laureados com o prêmio Nobel. Entre eles, merece menção o Dr. Norman Borlaug que recebeu o prêmio Nobel da Paz de 1970 pelas suas pesquisas, durante mais de vinte e cinco anos, no melhoramento do trigo, e também a Dra. Barbara McClintock que, trabalhando com citogenética do milho, recebeu o prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina em 1983, visto que os seus trabalhos abriram perspectivas, entre outras coisas, para que muitas doenças hereditárias pudessem ser mais eficientemente controladas.

# 2 VARIAÇÃO E SEU SIGNIFICADO BIOLÓGICO

## 2.1 INTRODUÇÃO

Todos os organismos que constituem uma dada espécie animal ou vegetal são semelhantes, em decorrência de receberem material genético de ancestrais comuns. Porém, em uma análise mais detalhada de dois ou mais indivíduos dessa espécie, notamos que eles nem sempre são completamente idênticos, ao contrário, notam-se diferenças fenotípicas para várias características. Essas diferenças constituem a **variação**.

Para que possamos entender melhor a natureza dessa variação é preciso inicialmente fornecer alguns conceitos. O primeiro é o que denominamos de **caráter**, ou seja, as informações que identificam um indivíduo. Assim, tomando como exemplo uma planta de milho, há inúmeros caracteres, isto é, altura da planta, cor das folhas, tamanho das raízes, cor dos grãos, tamanho dos grãos, teor de proteína, produtividade de grãos, etc., que identificam cada planta. Se fosse um bovino, entre os caracteres que identificam o indivíduo estariam o sexo, a cor da pelagem, a presença ou não de chifres, a produtividade de leite e o teor de gordura no leite. As diferentes expressões de um dado caráter constituem o que denominamos de **fenótipo**. Para o caráter altura da planta de milho o fenótipo pode ser alto ou baixo, para a cor dos grãos o fenótipo pode ser amarelo ou branco. Já para a produção de leite de uma vaca, o fenótipo pode assumir qualquer valor em termos de kg de leite por lactação, enquanto para a cor da pelagem o fenótipo pode ser preto e branco ou vermelho e branco.

É importante salientar que para uma mesma espécie todos os indivíduos apresentam os mesmos caracteres e, portanto, a variação observada entre esses indivíduos é a variação fenotípica. Ela pode ocorrer em virtude de diferenças ambientais (**variação ambiental**) a que os indivíduos estão submetidos ou ocorrer por causa de diferenças em suas constituições genéticas (**variação genética**).

A variação ambiental se deve a qualquer diferença, excetuando-se aquelas de natureza genética, que se originam em função de flutuações na fertilidade do solo, nutrição, temperatura, incidência de doenças ou pragas, umidade, etc. Assim, se tomarmos dois pedaços do caule (manivas) retiradas de uma mesma planta de mandioca, portanto geneticamente idênticas, e plantarmos em condições diferentes de fertilidade, uma das plantas produzirá muito mais raízes do que a outra. A variação fenotípica, nesse caso, é toda ambiental.

É oportuno salientar que a variação ambiental quase sempre está presente, o que muda é a intensidade com que ela pode se manifestar. Um outro aspecto da variação ambiental é que ela nunca pode ser transmitida à descendência. Por exemplo, se uma vaca apresenta uma alta produção de leite, em razão do excelente manejo dado pelo pecuarista, a produtividade de sua descendência será inferior, se os animais forem submetidos a piores condições de manejo. Assim, como a variação ambiental não é transmitida à descendência, ela não é utilizada na seleção e, portanto, não promove o melhoramento genético. Contudo, como veremos em alguns tópicos do curso, o seu efeito pode dificultar o trabalho do melhorista no reconhecimento dos indivíduos geneticamente superiores.

A variação genética aparece em decorrência das diferenças nas constituições genéticas que, por sua vez, surgem pela mutação (Capítulo 3). Ao contrário da variação ambiental, a variação genética pode, pelo menos em parte, ser transmitida à descendência e, portanto, é hereditária, sendo, por esta razão, essencial para o melhoramento genético das espécies domesticadas e para a evolução de todas as espécies (Capítulo 15).

A existência de variação genética é comum a todas as espécies biológicas e ocorre praticamente para todas as características de uma espécie. Desse modo, têm sido observadas variações para a coloração de flores de roseiras, produtividade de grãos de arroz, coloração de grãos do feijoeiro, altura de árvores de Pinus, densidade da madeira de eucalipto, teor de amido em tubérculos de batata, teor de óleo em sementes de soja, coloração da pelagem de cavalos, produção de leite em vacas, comprimento da carcaça de suínos, coloração da casca do ovo de galinhas, suscetibilidade ou resistência a certos patógenos, ou seja, para todos os caracteres das diferentes espécies.

Esses exemplos mostram que é possível realizar a seleção e, conseqüentemente, promover o melhoramento genético para qualquer espécie e, praticamente, qualquer caráter de interesse. Para isso, o geneticista ou melhorista deve ser capaz não só de detectar a ocorrência da variação fenotípica, mas, sobretudo, de identificar sua natureza, isto é, se é genética e/ou ambiental.

Principalmente, em razão das exigências do mercado consumidor e dos produtores, as cultivares de plantas e as raças de animais são cada vez mais uniformes. Essa uniformidade é, sem dúvida nenhuma, um risco para a agropecuária mundial. Assim, por exemplo, se ocorrer um patógeno ao qual o genótipo é suscetível, todos os indivíduos serão afetados com graves conseqüências para a espécie. A existência de variabilidade genética é importante para a continuidade das espécies e, também, para que, por meio do melhoramento genético, sejam obtidas novas combinações de maior interesse para o homem. Deve-se considerar ainda que as necessidades humanas variam com o tempo, de modo que a demanda futura para características específicas podem ser diferentes das atuais. Além disso, mudanças climáticas podem ocorrer tornando-se necessária a obtenção de novas cultivares de plantas ou raças

de animais mais adaptadas a essas condições. Assim, é fundamental que tenhamos variabilidade suficiente para atender aos requisitos exigidos nos programas de melhoramento genético.

## 2.2 CONSERVAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA

A preservação da variabilidade, ou a conservação dos recursos genéticos é considerada uma das questões mais importantes para a sobrevivência da humanidade e tem recebido a atenção dos governantes. A diversidade representa a base biológica para que se possa produzir os alimentos hoje, bem como dispor de meios para enfrentar os desafios futuros em termos de crescimento populacional, mudanças climáticas e presença de pragas e doenças, que estão em constante evolução. A conservação das espécies pode ser feita *in situ* ou *ex situ*. No primeiro caso, a conservação da variabilidade genética é feita no ambiente onde a espécie se evoluiu e, no segundo caso, a conservação é realizada em bancos de germoplasma, entendendo-se como **germoplasma** um conjunto de indivíduos representativos de uma espécie.

A escolha da forma de conservação dependerá de diversos fatores, entre eles se o material é cultivado ou selvagem e da disponibilidade de recursos físicos e financeiros. Quanto ao germoplasma a ser conservado, eles se enquadram em quatro categorias: (a) cultivares avançadas, atualmente em uso ou não, mas utilizadas comercialmente; (b) variedades primitivas; (c) parentes selvagens das culturas atuais ou animais com potencial de utilização e (d) estoques genéticos, tais como, mutações ou estoques citogenéticos (translocações, inversões, etc.).

### 2.2.1 conservação *in situ*

A conservação *in situ* tem sido preferida para as espécies selvagens e parentes das culturas que ocorrem na natureza. Os alelos dessas espécies podem ser transferidos para a espécie cultivada, contribuindo para aumentar a tolerância a condições de estresse ambiental, bem como a resistência a pragas e doenças; além disso, têm sido encontrados muitos alelos que conferem melhor sabor, qualidades culinárias e valor nutricional. Uma das vantagens preconizadas para a conservação *in situ* é a possibilidade das espécies continuarem seus processos evolutivos, o que lhes permitiria coevoluir com os seus patógenos e pragas. Por outro lado, esse tipo de conservação não é adequado para cultivares. Um outro aspecto que deve ser considerado, é a existência de um grande número de espécies selvagens e parentes das espécies cultivadas, tornando inviável sua conservação *ex situ*.

A conservação *in situ* tem sido realizada pelo estabelecimento de áreas protegidas, como as reservas naturais e parques nacionais. Algumas vezes, as reservas são estabelecidas para proteger uma paisagem famosa ou salvar um mamífero ou ave rara da extinção. Situação mais rara é a criação de reservas para proteger parentes silvestres de espécies de plantas

cultivadas. Contudo, o estabelecimento das reservas naturais, muitas vezes, contempla, casualmente, os parentes silvestres.

### 2.2.2 conservação *ex situ*

A principal ênfase para a conservação da variabilidade genética *ex situ* tem sido dada para as cultivares primitivas das espécies mais importantes. A razão disso é que essas cultivares tiveram um papel relevante no desenvolvimento científico da agricultura, sendo os ancestrais de todas as cultivares modernas. Uma outra razão importante é que esse material tem um valor potencial como fonte de variação para os futuros programas de melhoramento genético, além de estar sob uma eminente ameaça de extinção.

O banco de germoplasma é o local onde se armazena o material genético das espécies de interesse. Em outras palavras, banco de germoplasma é um banco de alelos, que são as formas alternativas dos genes e que caracterizam a existência de diversidade genética. Em realidade, os bancos de germoplasma não possuem apenas a função de armazenar o germoplasma, sendo também responsáveis pelas atividades de prospecção, coleta, introdução, intercâmbio, quarentena, caracterização, conservação, inspeção, multiplicação e regeneração do germoplasma.

**a) Prospecção e coleta** - A prospecção é uma atividade que antecede a coleta do germoplasma e objetiva efetuar um estudo preliminar para assegurar o sucesso de uma expedição de coleta. A coleta deve ser realizada de preferência em regiões onde a espécie possui maior variabilidade. Assim, uma coleta de germoplasma de milho no Brasil não deve ser realizada no Sudeste, onde a agricultura é mais evoluída e quase todos os agricultores adquirem sementes melhoradas. Por outro lado, no Norte e Nordeste, principalmente entre os indígenas, ainda são encontrados vários tipos de milho que, por não terem sido selecionados, ainda mantêm uma grande variabilidade. Já, na coleta de germoplasma de amendoim, seriam visitadas algumas regiões do Sul de Minas, onde há evidências de que essa espécie tem maior diversidade.

Um aspecto importante a ser observado na coleta é o tamanho da amostra, que varia, principalmente em função do modo de reprodução da espécie. Não basta apenas coletar um ou poucos indivíduos em cada propriedade, pois esse pequeno número pode não representar o germoplasma ali existente. Também não se deve coletar um número excessivo de indivíduos, pois o número de amostras (acessos) que o banco de germoplasma pode conservar é restrito.

**b) Introdução, intercâmbio e quarentena** - Uma outra forma de obtenção de acessos para um banco de germoplasma é por meio da introdução e intercâmbio. O intercâmbio se constitui no recebimento e envio de germoplasma para outros centros de conservação, podendo ser considerado uma das formas mais efetivas de aumento de variabilidade a ser

preservada. Normalmente, o intercâmbio e o serviço de quarentena são atividades de um mesmo setor dentro dos grandes bancos de germoplasma, que tem a responsabilidade de reduzir os riscos de introdução inadvertida de enfermidades e pragas no país, ou região que recebe o material genético. O setor de intercâmbio e quarentena, normalmente, possui laboratórios de bacteriologia, micologia, virologia, nematologia e entomologia, visando a evitar a disseminação desses patógenos e pragas.

**c) Caracterização** - Após a coleta ou introdução, o acesso deve ser, se possível, caracterizado, permitindo aos melhoristas tomar conhecimento das qualidades disponíveis no germoplasma das espécies que serão preservadas. Essas informações variam com a espécie, mas geralmente apresentam descrições sobre resistência às pragas e patógenos, características de grãos, tolerância a estresses ambientais, etc. Os responsáveis pelos bancos de germoplasma, periodicamente, publicam esses dados para fornecer, especialmente aos melhoristas, as informações que eles mais necessitam a respeito do germoplasma disponível.

**d) Conservação** - Existem diversos métodos de conservação *ex situ*, tais como bancos de sementes, preservação *in vivo*, cultura de tecidos e criopreservação para pólen, meristemas, embriões, sêmen e microrganismos. As sementes são a forma mais apropriada para armazenamento de germoplasma vegetal, pois, geralmente, são de tamanho reduzido e ocupam pequeno espaço. Para fins de armazenamento, elas são classificadas em dois grandes grupos:

**1) Sementes ortodoxas** - aquelas que podem ser dessecadas a baixos teores de umidade (4 a 6%) e armazenadas por longos períodos em câmaras frias, em embalagens herméticas. Como exemplos, temos o milho, feijão, trigo, arroz, soja, algodão, cebola, cenoura, tomate, eucalipto, etc.

**2) Sementes recalcitrantes** - aquelas que morrem rapidamente quando dessecadas abaixo de determinados níveis críticos, podendo, por isso, ser armazenadas apenas por poucas semanas ou meses. Como exemplos, citam-se o café e cacau.

As espécies que não produzem sementes com facilidade ou que apresentam sementes recalcitrantes têm sido conservadas na forma *in vivo*, isto é, em coleções de plantas vivas. De modo geral, esse sistema de preservação é mais trabalhoso que a conservação de sementes, além de estar sujeito a desastres naturais como fogo e ataque de pragas e doenças. No entanto, constitui uma das únicas formas de conservação de algumas espécies florestais e de espécies animais.

A conservação na forma de cultura de tecidos é bastante apropriada, principalmente para espécies de propagação vegetativa ou que produzem sementes com pouca frequência. Para fins de conservação do germoplasma, a cultura de tecidos, é utilizada de maneira que o crescimento seja retardado, evitando multiplicações constantes. Bancos de germoplasma *in vitro* já estão bem estabelecidos para mandioca, batata, batata-doce e algumas espécies frutíferas temperadas.

**e) Multiplicação e regeneração** - A multiplicação é a reprodução de um acesso para atender à demanda dos melhoristas ou para fins de intercâmbio. Cuidados devem ser tomados no processo de amostragem (tamanho da amostra), evitando alterações nas frequências alélicas. Normalmente, a multiplicação se dá em condições de campo, ou de casa de vegetação, principalmente, quando se trata de espécie propagada por sementes. A regeneração é a reprodução de um acesso visando à manutenção da sua integridade genética e a sua conservação por mais um período de tempo no banco. Recomenda-se que essa regeneração deva ser feita, toda vez que as sementes armazenadas apresentem porcentagem de germinação mínima para cada espécie. No caso de espécies mantidas *in vitro*, as plântulas devem ser transferidas para casas de vegetação, permitindo o seu revigoramento vegetativo. O intervalo de tempo entre uma regeneração e outra deve ser determinado para cada espécie, levando-se em consideração se a espécie é conservada na forma de sementes ou *in vitro*. Para as espécies conservadas *in vitro*, normalmente, o intervalo é bem mais curto do que para as conservadas como sementes que, muitas vezes, podem ser armazenadas por muitos anos, até mais de um século, no caso de gramíneas.

### 2.3 CONSERVAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA NO BRASIL

No Brasil, a conservação da variabilidade genética tem sido coordenada pela EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN) fundada em 1974. O CENARGEN iniciou as atividades de coleta, em 1975, e conta hoje com mais de 350.000 acessos de feijão, arroz, cevada, soja, trigo, sorgo, milho, caupi, algodão, tritcale, amendoim, aveia e outras espécies. Algumas espécies de propagação vegetativa como mandioca, batata-doce, cará, batata, banana, morango e aspargo são conservadas *in vitro*. A conservação *ex situ* também é feita em diversos bancos de germoplasma distribuídos nas várias unidades da Embrapa (Tabela 2.1).

A conservação *in situ*, no CENARGEN, iniciou-se em 1984, com a criação de 5 reservas genéticas onde são preservadas espécies como o pinheiro-do-Paraná, imbuía, erva-mate, jequitibá, cedro, angico, mogno, etc.

O CENARGEN também se preocupa com a conservação de germoplasma animal iniciada em 1981. A conservação é feita *in vivo* nos núcleos de criação e inclui bovinos (Mocho Nacional, Crioulo Lageano, Pantaneiro, Curraleiro), bubalinos (Baio e Carabao), ovinos (Crioulo Lanado, Santa Inês e Morada Nova); equinos (Lavradeiro e Pantaneiro), asininos (Jumento Nordestino e Jegue), caprinos (Moxotó, Marota, Canindé e Repartida), suínos (Moura, Caruncho, Pirapetinga, Piau, Canastra, Macao e Nilo) e aves. A maioria dessas raças está no Brasil desde o período colonial e desenvolveram rusticidade e adaptabilidade que são importantes para os programas de melhoramento. Realiza-se, ainda, a criopreservação de sêmen e embriões de bovinos e sêmen de caprinos.

**TABELA 2.1.** Constituição das curadorias de bancos ativos de germoplasma, nas unidades da Embrapa.

Unidade da Embrapa	Curadoria de Bancos ativos de germoplasma	Local
Embrapa Agrobiologia	Microrganismos: bactérias diazotróficas e Microrganismos: bactérias micorrizas	Itaguaí, RJ
Embrapa Agroindústria Tropical	Caju; Flores e espécies ornamentais tropicais	Fortaleza, CE
Embrapa Algodão	Algodão, Sisal, Amendoim, Gergelim e Mamona	Campina Grande, PB
Embrapa Amazônica Ocidental	Caiaué, dendê, Cupuaçu, Guaraná, Mandioca, Plantas condimentares, medicinais, aromáticas, Espécies florestais, Fruteiras tropicais e Crôton	Manaus, AM
Embrapa Amazônica Oriental	Palmeiras, Plantas inseticidas, Búfalos, Culturas industriais, Forrageiras, Fruteiras, Mandioca, Plantas condimentares, Plantas medicinais, Plantas fibrosas-curauá, Cupuaçu, Bacuri, Camu-Camu, Poney puruca e Cavalo Marajoara	Belém, PA
Embrapa Arroz e Feijão	Arroz e Feijão	Goiânia, GO
Embrapa Caprinos	Caprinos da raça Canindé e Moxotó	Sobral, CE
Embrapa Cerrados	Mandioca, Quinoa, Seringueira, Plantas medicinais, Forrageiras, <i>Eucalyptus</i> e Pinus e Abacate	Brasília, DF
Embrapa Clima Temperado	Azevém, Batata-doce, Batatas cultivadas e silvestre, Frutas nativas, Cenoura, <i>Capsicum</i> , Cebola, Cucurbitáceas, Espinheira-santa e Prunóideas	Pelotas, RS
Embrapa Florestas	Coníferas folhosas	Colombo, PR
Embrapa Gado de Corte	<i>Brachiaria</i> , <i>Panicum</i> e <i>Stylosanthes</i>	Campo Grande, MS
Embrapa Hortaliças	Abóbora, Moranga, Alho, Batata-doce, Mandioquinha-salsa e Berinjela	Brasília, DF
Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical	Mandioca, Citros, Abacaxi, Acerola, Banana, Mamão e Maracujá	Cruz das Almas, BA
Embrapa Meio-Norte	Bovino da Raça Pé-duro, Caprinos da Raça Marota, Caprino da Raça Azul e Feijão caupi	Teresina, PI
Embrapa Milho e Sorgo	Milheto, Milho e Sorgo	Sete Lagoas, MG
Embrapa Pantanal	Bovino Pantaneiro e Cavalo Pantaneiro	Corumbá, MS
Embrapa Pecuária Sudeste	<i>Paspalum</i>	São Carlos, SP
Embrapa Pecuária Sul	Ovelha Crioula Lanada e Forrageiras	Bagé, RS
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia	Cogumelos, Espécies florestais nativas e pinus, <i>Arachis</i> , Menta, <i>Manihot</i> , Plantas ornamentais, Animais de grande porte e Animais de pequeno porte	Brasília, DF
Embrapa Rondônia	Cupuaçu, Flores Tropicais e plantas ornamentais, Plantas medicinais, Café, Espécies florestais, Guaraná, Pimenta-do-reino	Porto Velho, RO
Embrapa Semi-Árido	Curcubitácea, Forrageira, Mandioca, Manga, Umu, Uva	Petrolina, PE
Embrapa Soja	Soja, Microrganismos: fungos entomopatógenos e Girassol	Londrina, PR
Embrapa Suínos e Aves	Aves de corte, Aves de postura e Suínos Moura	Concórdia, SC
Embrapa Tabuleiros Costeiros	Coco	Aracaju, SE
Embrapa Trigo	Aveia, Centeio, Cevada, Triticale, Trigo e Espécies afins	Passo Fundo, RS
Embrapa Uva e Vinho	Uva	Bento Gonçalves, RS

Fonte: Wetsel e Ferreira (2007)

## 2.4 CONSERVAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA NO MUNDO

As coleções de sementes de todo o mundo estão vulneráveis a uma ampla gama de ameaças – combates civis, guerras, catástrofes naturais, e, mais frequentemente, mas não menos desastroso, é o manuseio incorreto, falta de recursos adequados e falhas de equipamentos. Variedades únicas das nossas culturas mais valiosas são perdidas toda vez que alguns desses desastres acontecem, de modo que amostras duplicadas das coleções em vários locais em todo o mundo atuam como uma apólice de seguros para o suprimento de alimentos no mundo. Ao redor de todo o mundo, diversos centros são responsáveis pela preservação da diversidade genética. Na Tabela 2.2, é apresentada uma relação das Instituições onde se concentram os principais bancos de germoplasma. Em 2008, foi inaugurado o maior banco de germoplasma do mundo localizado em Svalbard (Noruega).

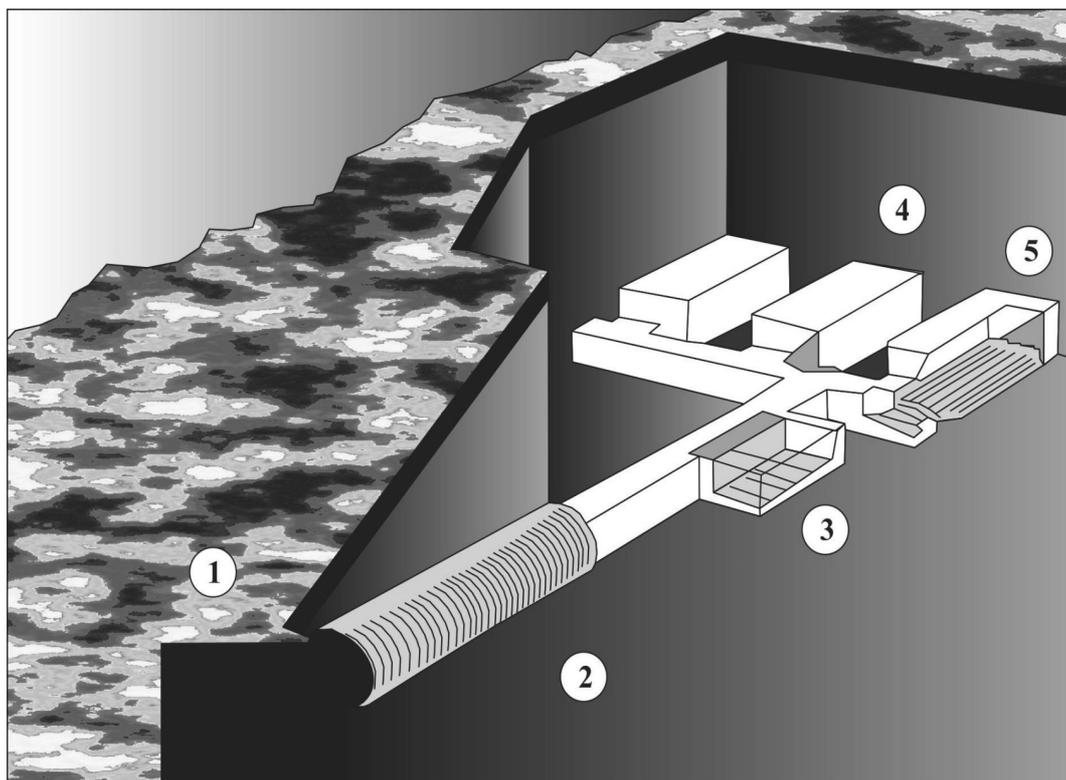
**TABELA 2.2.** Relação das Instituições responsáveis pelos principais bancos de germoplasma do mundo.

- IPGRI - International Plant Genetic Resources Institute (Instituto Internacional para Recursos Genéticos Vegetais) - Itália - Coordena oito estações internacionais de Pesquisa e 60 bancos de genes em diversas nações.
- NSSL - Laboratório Nacional de Armazenagem de Sementes (ligado ao IBPGR) - Situado em Fort Collins, Colorado, Estados Unidos.
- IRRI - Instituto Internacional de Pesquisa do Arroz - Filipinas.
- CIMMYT - Centro Internacional de Melhoramento de Milho e Trigo - México.
- CIAT - Centro Internacional para Agricultura Tropical - Colômbia.
- IITA - Instituto Internacional de Agricultura Tropical - Nigéria.
- CIP - Centro Internacional da Batata - Peru.
- ICRISAT - Instituto Internacional de Pesquisa de Culturas para os Trópicos Semi-Áridos - Índia.
- WARDA - Associação para Desenvolvimento do Arroz da África Ocidental - Libéria.
- ICARDA - Centro Internacional de Pesquisa Agrícola em Áreas Domésticas - Líbano.

Fonte: Mooney (1987)

O Svalbard Global Seed Vault (Silo Global de Sementes de Svalbard) foi criado para servir como um seguro para a diversidade das espécies cultivadas (Figura 2.1). A idéia surgiu no ano de 1980, mas somente com o apoio da “*International Treaty on Plant Genetic*

*Resources*” (Comitê Internacional de Recursos Genéticos de Plantas) e de um acordo internacional para a conservação e acesso à diversidade das culturas que a construção tornou-se possível.



**FIGURA 2.1** Esquema ilustrativo do silo de sementes de Svalbard. (1) O teto da entrada do silo possui aço altamente refletivo, espelhos e prismas. Nos meses de verão, a luz polar é refletida enquanto que, nos meses de inverno, mais de 200 cabos de fibras óticas tornam a luz turquesa-esverdeada ou branca. (2) Um túnel de 93,3 m é cortado dentro da montanha e se liga a uma entrada de 26 m para os três silos. Cada silo tem aproximadamente 10 m de largura, 26 m de comprimento e 6 m de altura. (3) Escritório localizado a 80 m da entrada e que tem como função receber as sementes dos bancos de germoplasma de todo o mundo e fazer o inventário. (4) O silo tem capacidade para armazenar cerca de 4,5 milhões de amostras de sementes. Cada amostra tem uma média de 500 sementes, totalizando 2,25 bilhões de sementes. (5) As sementes serão armazenadas a  $-18^{\circ}\text{C}$ , em embalagens de 4 filmes de papel alumínio, colocadas em caixas seladas e colocadas nas prateleiras. A baixa temperatura e umidade permitirão pouca atividade metabólica mantendo as sementes viáveis por décadas, séculos ou, em alguns casos, milênios.

O silo de sementes de Svalbard é o maior silo para sementes do mundo, e foi construído próximo à pequena vila de Longyearbyen, no remoto arquipélago Ártico de Svalbard, a apenas cerca de 1120 km ao sul do pólo norte. O silo de Svalbard tem como objetivo

salvaguardar a biodiversidade das espécies de plantas cultivadas que servem como alimento para as populações do mundo e seus países e preservará cerca 90% das sementes conhecidas existentes no mundo, doadas pelos países produtores.

O silo é uma estrutura inteiramente subterrânea e foi escolhido por ser um lugar a salvo das possíveis alterações climáticas causadas pelo aquecimento global e/ou quaisquer outras causas. O silo tem capacidade para abrigar 2,25 bilhões de sementes. As câmaras estarão a uma temperatura de  $-18^{\circ}\text{C}$ , e se por alguma razão o sistema elétrico de refrigeração falhar, o montante de gelo e neve que, naturalmente, recobre o silo – *permafrost* – manterá as sementes entre  $-4$  e  $-6^{\circ}\text{C}$ . O silo é componente essencial de um sistema global e racional para a conservação da diversidade das espécies cultivadas e será mantido com recursos do Comitê Internacional, o qual está comprometido em dar apoio aos custos operacionais e em assistir os países em desenvolvimento com o preparo, empacotamento e transporte das sementes para o Ártico.

Todas as sementes armazenadas no silo permanecerão de propriedade do país ou instituição remetente das mesmas. Não haverá mudança de propriedade embora, em todos os casos, qualquer semente aceita para armazenamento no silo deverá estar livremente disponível sob os termos do Comitê Internacional de Recursos Genéticos de Plantas. Em outras palavras, não haverá sementes no silo que não estarão facilmente acessíveis por meio de um simples contato direto com o banco que as enviou. Essas instituições, mandam suas coleções de sementes para o silo com a finalidade de usar da segurança que ele oferece. Armazenar as sementes é livre de custos para os bancos e é uma ação voluntária. A instituição depositária assina um contrato com o NordGen, que é o responsável pelo gerenciamento do silo, mas ninguém tem o direito de abrir as caixas quando elas chegam ao banco.

### PROBLEMAS PROPOSTOS

1. Por que é importante para a genética a existência de variação?
2. Explique por que a variação genética é herdável e a variação ambiental não é herdável.
3. Uma vaca, durante a sua vida, produziu 5 bezerras e 3 bezerros, e o peso dos animais no momento do nascimento foi diferente. Qual a natureza dessa variação? Qual seria sua resposta, se fosse considerada a variação no peso ao nascer dos 8 leitões de uma leitegada de uma porca?
4. Qual a principal atividade do Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN)? O que faz o profissional que trabalha nesse centro?
5. Explique qual é a importância de conservar o germoplasma das espécies cultivadas e de seus parentes próximos.



# 3 GENÉTICA MOLECULAR

## 3.1 INTRODUÇÃO

Em biologia, é bastante conhecido o lema “**estrutura e função estão intimamente relacionados**”. Isso significa que qualquer função biológica é realizada, por exemplo, por um órgão que possui uma estrutura adequada para a sua função. No caso do controle genético dos caracteres, sabemos que ele ocorre graças à existência de unidades hereditárias, os genes, que também seguem o mesmo lema. Aliás, qualquer estrutura biológica depende, em primeiro lugar, da sua composição química. Assim, para entendermos bem o funcionamento do gene devemos estender o lema “**composição química, estrutura e função estão intimamente relacionados**”. Portanto, para que possamos conhecer a base molecular da herança, precisamos responder às seguintes perguntas: Qual a constituição química e estrutura do gene - material genético? Como ele funciona para produzir os fenótipos que nós observamos? E, finalmente, qual a base da variabilidade genética?

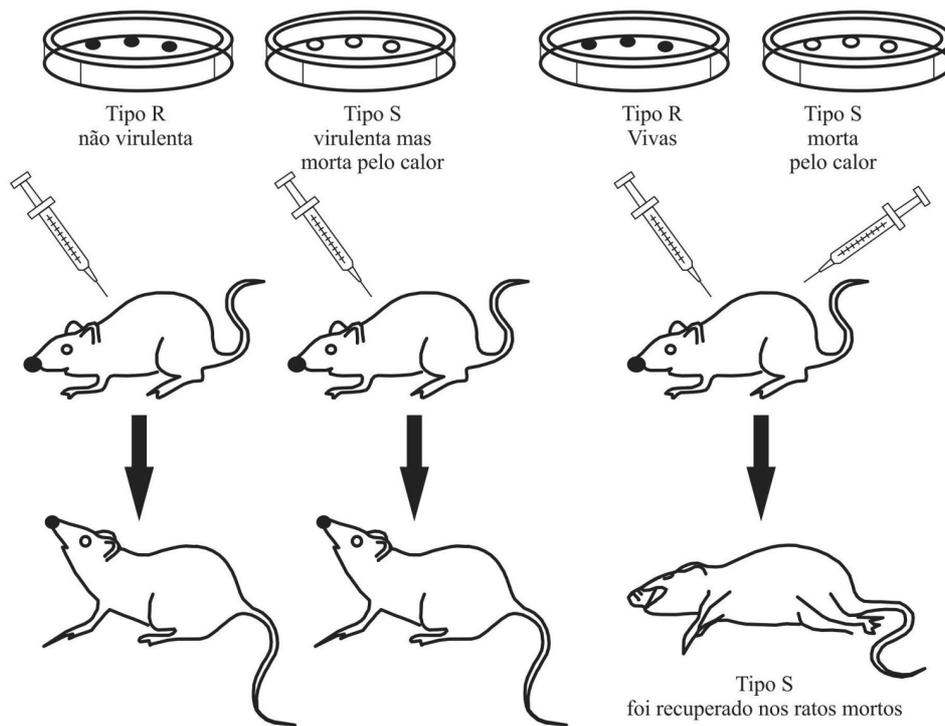
Antes de procurar entender esses fenômenos importantes, é necessário salientar que a maioria desses conhecimentos foi obtida mediante pesquisas realizadas com bactérias e vírus, principalmente, porque esses organismos apresentam uma série de características que os tornam atrativos aos estudos genéticos. Entre essas características, destacam-se o ciclo reprodutivo muito curto e o fácil manuseio em laboratório de um grande número de descendentes, associados à menor complexidade e organização do material genético.

A genética molecular é o ramo que evolui mais rapidamente, não só dentro da genética, mas também de toda a biologia. O volume de trabalhos científicos publicados nessa área é enorme, de modo que as informações logo estão ultrapassadas. Assim, neste capítulo procuraremos dar uma visão geral dos princípios fundamentais da genética molecular, lembrando aos leitores que há necessidade de manter contato constante com a literatura para se atualizar com as novas descobertas.

## 3.2 NATUREZA QUÍMICA DO MATERIAL GENÉTICO

Em 1928, a elucidação da natureza química do material genético começou a tomar forma. Trabalhando com a bactéria causadora da pneumonia em mamíferos, *Streptococcus*

*pneumoniae*, o pesquisador Griffith demonstrou que a virulência dessa bactéria em ratos depende da presença de uma cápsula composta de polissacarídeos que impede a fagocitose da bactéria. As colônias dessas bactérias exibem uma superfície lisa e são designadas S. Por outro lado, existem bactérias não virulentas, porque são fagocitadas, em razão de não possuírem a cápsula de polissacarídeos. Essas bactérias produzem colônias com superfície rugosa, sendo designadas R. Griffith verificou que, injetando em ratos bactérias R vivas, ou bactérias S mortas pelo calor, estas não lhes causavam a morte. Entretanto, quando bactérias R vivas e S mortas pelo calor foram injetadas, simultaneamente, os ratos morriam de pneumonia, indicando que algumas bactérias R haviam se transformado no tipo virulento S (Figura 3.1). Essas bactérias S isoladas a partir do sangue dos ratos mortos, aliada à capacidade delas em produzir novas transformações de bactérias R para S, indicaram que a transformação provocava uma mudança genética permanente e hereditária.

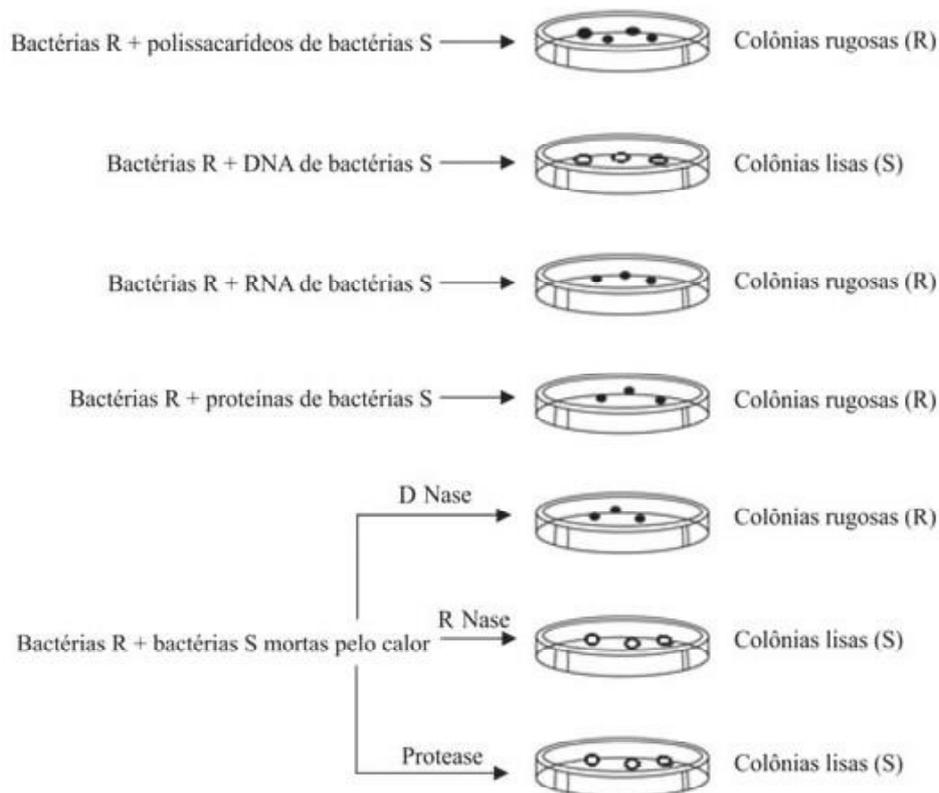


**FIGURA 3.1.** Esquema do experimento realizado por Griffith, que demonstrou a transformação bacteriana.

Por meio desse experimento, ficou demonstrado que deveria existir algum componente nas bactérias S que transformava as bactérias R em virulentas. No entanto, esse componente denominado princípio transformante, só foi identificado dezesseis anos depois, em 1944, por três pesquisadores: Avery, MacLeod e McCarty. Eles isolaram diferentes classes de moléculas

encontradas nos restos de bactérias S mortas pelo calor e testaram cada classe separadamente para verificar sua capacidade transformante. Testes de moléculas purificadas de polissacarídeos, DNA, RNA e frações protéicas revelaram que somente o DNA podia transformar células R para o tipo S.

Esses resultados foram também confirmados por meio de outro experimento, no qual eles usaram enzimas que degradam certos tipos específicos de moléculas. Entre essas enzimas, incluiu-se DNase - desoxirribonuclease, que degrada DNA, mas não RNA ou proteínas; RNase -ribonuclease, que degrada somente RNA; e protease, que degrada apenas proteínas. A transformação de bactéria R no tipo virulento S só não ocorreu em presença de DNase, demonstrando que essa enzima havia destruído a informação genética contida no DNA (Figura 3.2). Apesar desses resultados conclusivos, a dúvida entre DNA ou proteína como material genético ainda continuou por alguns anos (Box 3.1).

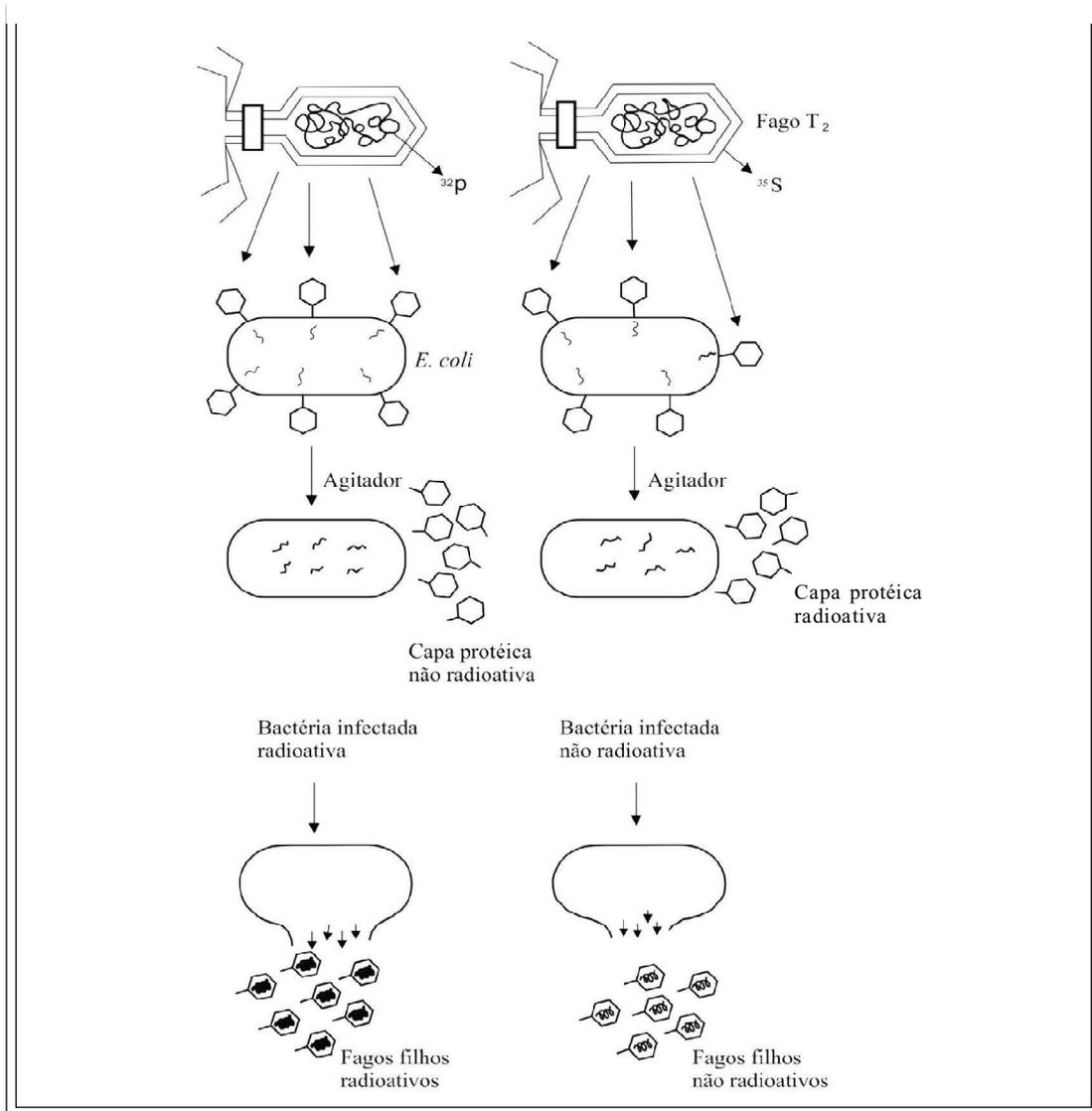


**FIGURA 3.2.** Experimento de Avery, MacLeod e McCarty que comprovou ser o DNA o material genético primário. Observe que somente o DNA foi capaz de transformar as bactérias R em S. Veja também que em presença da DNase não ocorre transformação, uma vez que esta enzima degrada o DNA.

**BOX 3.1. PROVA QUE O DNA É O MATERIAL GENÉTICA E NÃO A PROTEÍNA**

A dúvida entre proteína ou DNA como material genético só foi definitivamente elucidada com o trabalho de Hershey e Chase em 1952. Eles realizaram um experimento usando o bacteriófago - partícula viral que se reproduz na célula bacteriana. O bacteriófago ou, simplesmente, fago é organismo bastante simples, constituído apenas de uma capa protéica, no interior da qual se aloja uma molécula de DNA. Hershey e Chase demonstraram que a reprodução do fago pela bactéria hospedeira dependia apenas da introdução do DNA viral, o qual fornecia todas as informações genéticas necessárias à formação de fagos novos. Segundo esses pesquisadores, a capa protéica do fago permanece no exterior da bactéria infectada e, portanto, nada tem a ver com as informações genéticas necessárias à sua reprodução. Para chegar a essas conclusões, Hershey e Chase produziram duas populações diferentes de fagos. Uma com a capa protéica marcada com enxofre radioativo ( $^{35}\text{S}$ ) e outra com DNA marcado com fósforo radioativo ( $^{32}\text{P}$ ). Essas duas populações de fagos foram posteriormente usadas para infectar duas colônias bacterianas, separadamente, e os novos descendentes dos fagos foram avaliados quanto à radioatividade.

A população de fagos marcada com fósforo radioativo produziu descendentes altamente radioativos, demonstrando que o DNA marcado havia penetrado na bactéria e comandado a síntese de novos fagos. Por outro lado, a população marcada com enxofre radioativo produziu uma descendência praticamente desprovida de radioatividade. Esses resultados mostraram claramente que o DNA é também o material genético desse fago e não a proteína, porque ela não foi passada para os fagos filhos.

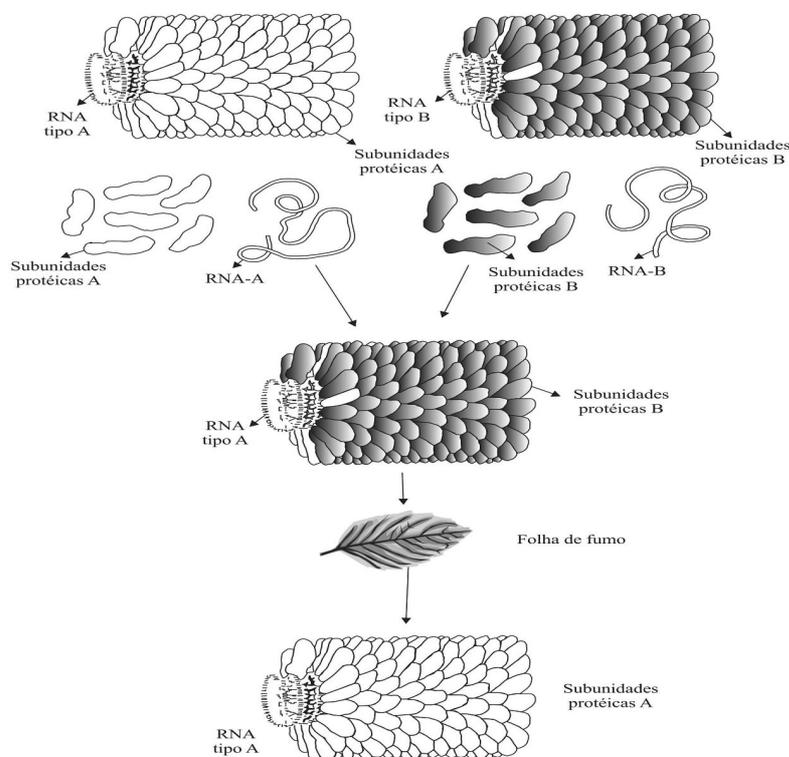


As pesquisas realizadas por Stadler e Uber, em 1942, também, forneceram evidências sobre a natureza do material genético em eucariotos. Mutações gênicas foram induzidas, irradiando-se pólen de milho com raios ultravioleta, os quais são absorvidos pelo DNA. Esses grãos de pólen foram utilizados na polinização de plantas que geraram alguns descendentes mutantes. Ficou assim demonstrado que o DNA é também o material genético em eucariotos, e que qualquer alteração nessa macromolécula é transmitida aos descendentes. Nos tempos atuais, não existe a menor dúvida de que o DNA é o material genético dos organismos vivos e a prova direta foi fornecida a partir dos trabalhos de produção de transgênicos que consiste na transferência de genes – DNA – entre diferentes espécies, que se iniciaram a partir da década de 1980.

Há, contudo, exceções apenas em alguns vírus, nos quais o material genético primário é o RNA, em vez de DNA (Box 3.2).

**BOX 3.2. PROVA DE QUE O RNA DO VÍRUS DO MASAICO DO FUMO (TMV) É O MATERIAL GENÉTICO.**

O TMV é constituído por uma molécula de RNA envolta por uma capa protéica, a qual protege o material genético da degradação por enzimas - ribonucleases. O TMV possui várias estirpes e cada uma possui a sua capa protéica específica. Cada estirpe é capaz de infectar uma cultivar particular de fumo, por meio de sua capa protéica. Empregando métodos bioquímicos, Fraenkel-Conrat e outros mostraram que a proteína podia ser separada do RNA, mas não era infectante por si só. Somente quando combinada com RNA isolado, reconstituindo-se o vírus, é que a infectividade ocorria, sendo produzidas novas partículas virais. Mais tarde, experimentos de Fraenkel-Conrat e Singer mostraram que TMVs reconstituídos com RNA de uma estirpe (A) e proteína de outra (B) eram infectivos, mas suas progênes eram inteiramente determinadas pelo RNA do genitor (A) e não pela proteína do genitor (B), demonstrando o papel genético desse ácido nucléico.



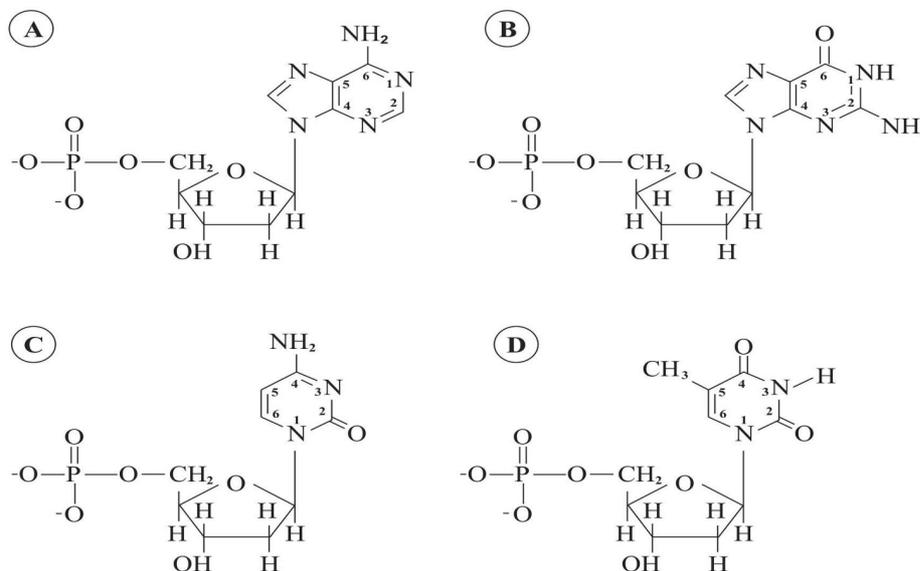
### 3.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ESTRUTURA DOS ÁCIDOS NUCLÉICOS

O conhecimento das moléculas constituintes dos ácidos nucleicos e as ligações entre elas, em consequência de suas propriedades, são fundamentais para entendermos as estruturas tanto do DNA quanto dos RNAs. Essas estruturas, por sua vez, são responsáveis pelas funções desses ácidos e nos ajuda a compreendê-los como as moléculas responsáveis pela vida.

#### 3.3.1 DNA

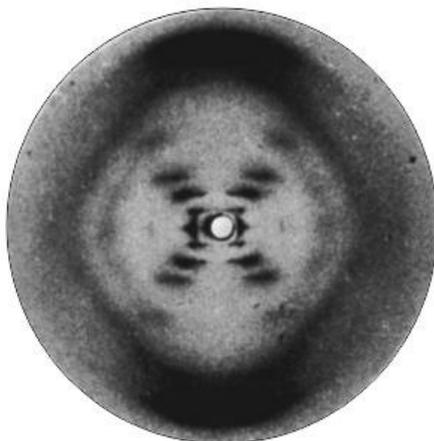
O DNA é composto de monômeros chamados **nucleotídeos**. Cada nucleotídeo contém um **ácido fosfórico**, um açúcar de cinco carbonos - **desoxirribose** - e uma das quatro bases nitrogenadas: **adenina (A)**, **guanina (G)**, **timina (T)**, e **citossina (C)** (Figura 3.3). Adenina e guanina pertencem ao grupo chamado de **purinas**, enquanto a timina e citossina são do grupo das **pirimidinas**.

A estrutura molecular do DNA foi proposta por Watson e Crick em 1953. Para isso, eles consideraram as propriedades químicas dos seus componentes e, principalmente, as evidências obtidas por Chargaff e colaboradores sobre a composição de bases do DNA de diferentes espécies e, também, os resultados dos estudos de difração de raios X – tipo de radiografia – feitos por Franklin e Wilkins.



**FIGURA 3.3.** Estrutura química dos quatro desoxirribonucleotídeos que constituem o DNA. Em dois, participam as bases nitrogenadas púricas e correspondem a desoxiadenosina 5' monofosfato (A) e a desoxiguanosina 5' monofosfato (B); nos outros dois as bases nitrogenadas são pirimídicas e compreendem a desoxicitidina 5' monofosfato (C) e a timidina 5' monofosfato (D).

A principal contribuição de Chargaff foi a evidência de que a quantidade de A é igual à de T e a quantidade de G é igual à de C, independente da espécie. Portanto,  $A/T=1$  e  $G/C=1$ . Já os estudos com difração de raios X mostraram que a molécula do DNA é helicoidal (Figura 3.4).



**Figura 3.4** – Fotografia com raios X do DNA tipo B ou hidratado, derivado de timo de bovino. A partir dessa fotografia foi sugerido que a molécula é helicoidal e cada volta contém 10 pares de nucleotídeos, ocupando um espaço de 34 Å. Cada par de nucleotídeo ocupa um espaço na molécula de 3,4 Å. Foi constatado ainda que o diâmetro da molécula é de 20 Å (Frankling e Gosling 1953).

Segundo o modelo formulado por Watson e Crick, a molécula de DNA é constituída por duas cadeias enroladas para a direita, formando a chamada **hélice dupla** (Box 3.3 e Figura 3.5). Analogamente, a estrutura do DNA pode ser comparada a uma escada circular com dois corrimãos. Nesse caso, os corrimãos correspondem às ligações repetitivas de açúcar-fosfato ao longo de todo o comprimento da molécula. A ligação do açúcar-fosfato ocorre de modo tal que a posição 3' da molécula de açúcar liga-se ao grupamento fosfato que, por sua vez, liga-se à posição 5' da molécula de açúcar subsequente, isto é, elas são sintetizadas na direção de 5' para 3'. Observando a Figura 3.6, nota-se que as duas cadeias ocorrem em direções opostas, isto é, enquanto uma é 5'→ 3' a outra é 3'→ 5'. É por essa razão que as cadeias são ditas **antiparalelas**.

A parte variável da molécula é constituída por pares de bases nitrogenadas que formam os degraus da escada. Cada degrau ocupa um espaço de 3,4 Å de comprimento e têm entre si um desvio no sentido horário de 36°. Dessa forma, uma volta completa - 360° - envolve dez degraus perfazendo 34 Å de comprimento.

### BOX 3.3. TRABALHO DE WATSON E CRICK, PUBLICADO NA NATURE EM 1953 PROPONDO A ESTRUTURA DO DNA.

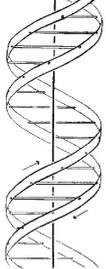
#### MOLECULAR STRUCTURE OF NUCLEIC ACIDS

##### A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid

**W**E wish to suggest a structure for the salt of deoxyribose nucleic acid (D.N.A.). This structure has novel features which are of considerable biological interest.

A structure for nucleic acid has already been proposed by Pauling and Corey<sup>1</sup>. They kindly made their manuscript available to us in advance of publication. Their model consists of three intertwined chains, with the phosphates near the fibre axis, and the bases on the outside. In our opinion, this structure is unsatisfactory for two reasons: (1) We believe that the material which gives the X-ray diagrams is the salt, not the free acid. Without the acidic hydrogen atoms it is not clear what forces would hold the structure together, especially as the negatively charged phosphates near the axis will repel each other. (2) Some of the van der Waals distances appear to be too small.

Another three-chain structure has also been suggested by Fraser (in the press). In his model the phosphates are on the outside and the bases on the inside, linked together by hydrogen bonds. This structure as described is rather ill-defined, and for this reason we shall not comment on it.



We wish to put forward a radically different structure for the salt of deoxyribose nucleic acid. This structure has two helical chains each coiled round the same axis (see diagram). We have made the usual chemical assumptions, namely, that each chain consists of phosphate diester groups joining  $\beta$ -D-deoxyribofuranose residues with 3',5' linkages. The two chains (but not their bases) are related by a dyad perpendicular to the fibre axis. Both chains follow righthanded helices, but owing to the dyad the sequences of the atoms in the two chains run in opposite directions. Each chain loosely resembles Furberg's<sup>2</sup> model No. 1; that is, the bases are on the inside of the helix and the phosphates on the outside. The configuration of the sugar and the atoms near it is close to Fuberg's 'standard configuration' the sugar being roughly perpendicular to the attached base. There is a residue on each chain every 3.4 Å. in the z-direction. We have assumed an angle of 36° between adjacent residues in the same chain, so that the structure repeats after 10 residues on each chain, that is, after 34 Å. The distance of a phosphorus atom from the fibre axis is 10 Å. As the phosphates are on the outside, cations have easy access to them.

The structure is an open one, and its water content is rather high. At lower water contents we would expect the bases to tilt so that the structure could become more compact.

The novel feature of the structure is the manner in which the two chains are held together by the purine and pyrimidine bases. The planes of the bases are perpendicular to the fibre axis. They are joined

together in pairs, a single base from one chain being hydrogen-bonded to a single base from the other chain, so that the two lie side by side with identical z-coordinates. One of the pair must be a purine and the other a pyrimidine for bonding to occur. The hydrogen bonds are made as follows: purine position 1 to pyrimidine position 1, purine position 6 to pyrimidine position 6.

If it is assumed that the bases only occur in the structure in the most plausible tautomeric forms (that is, with the keto rather than the enol configurations) it is found that only specific pairs of bases can bond together. These pairs are: adenine (purine) with thymine (pyrimidine), and guanine (purine) with cytosine (pyrimidine).

In other words, if an adenine forms one member of a pair, on either chain, then on these assumptions the other member must be thymine; similarly for guanine and cytosine. The sequence of bases on a single chain does not appear to be restricted in any way. However, if only specific pairs of bases can be formed, it follows that if the sequence of bases on one chain is given, then the sequence on the other chain is automatically determined.

It has been found experimentally<sup>3,4</sup> that the ratio of the amounts of adenine to thymine, and the ratio of guanine to cytosine, are always very close to unity for deoxyribose nucleic acid.

It is probably impossible to build this structure with a ribose sugar in place of the deoxyribose, as the extra oxygen atom would make too close a van der Waals contact.

The previously published X-ray data<sup>5,6</sup> on deoxyribose nucleic acid are insufficient for a rigorous test of our structure. So far as we can tell, it is roughly compatible with the experimental data, but it must be regarded as unproved until it has been checked against more exact results. Some of these are given in the following communications. We were not aware of the details of the results presented there when we devised our structure, which rests mainly though not entirely on published experimental data and stereo-chemical arguments.

It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material.

Full details of the structure, including the conditions assumed in building it, together with a set of co-ordinates for the atoms, will be published elsewhere.

We are much indebted to Dr. Jerry Donohue for constant advice and criticism, especially on interatomic distances. We have also been stimulated by a knowledge of the general nature of the unpublished experimental results and ideas of Dr. M. H. F. Wilkins, Dr. R. E. Franklin and their co-workers at King's College, London. One of us (J.D.W.) has been aided by a fellowship from the National Foundation for Infantile Paralysis.

J. D. Watson  
F. H. C. Crick

Medical Research Council Unit for the Study of the Molecular Structure of Biological Systems, Cavendish Laboratory, Cambridge, April 2.

<sup>1</sup>Pauling, L., and Corey, R. B., *Nature*, 171, 346 (1958); *Proc. U.S. Nat. Acad. Sci.*, 39, 84 (1953).

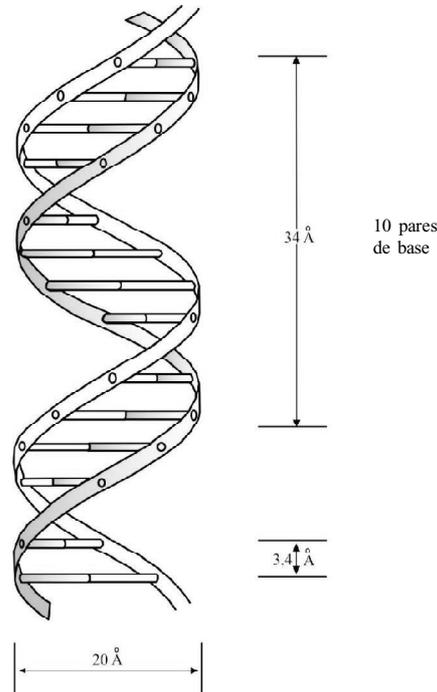
<sup>2</sup>Furberg, S., *Acta Chem. Scand.*, 6, 634 (1952).

<sup>3</sup>Chargaff, E., for references see Zamenhof, S., Brawerman, G., and Chargaff, E., *Biochim. et Biophys. Acta*, 9, 402 (1952).

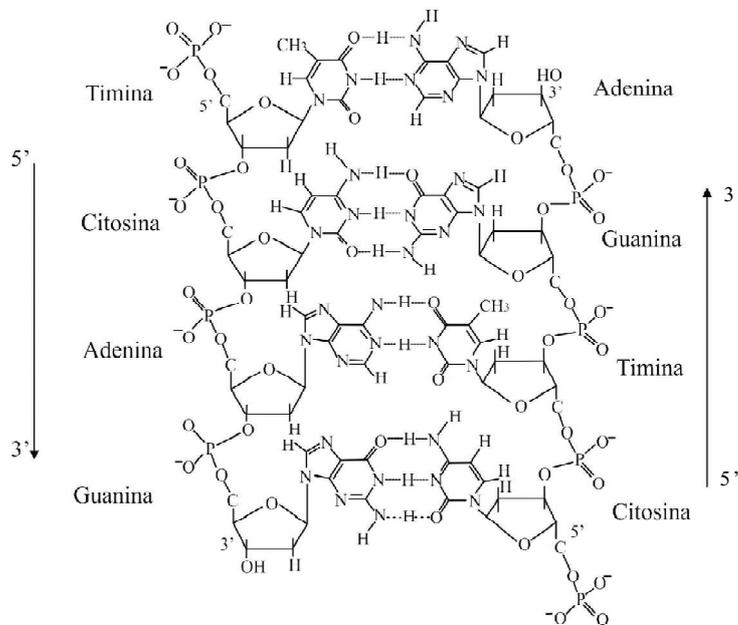
<sup>4</sup>Wyatt, G. R., *J. Gen. Physiol.*, 36, 201 (1952).

<sup>5</sup>Astbury, W. T., *Symp. Soc. Exp. Biol. 1, Nucleic Acid*, 66 (Camb. Univ. Press, 1947).

<sup>6</sup>Wilkins, M. H. F., and Randall, J. T., *Biochim. et Biophys. Acta*, 10, 192 (1953).



**FIGURA 3.5.** Esquema da hélice dupla de DNA, evidenciando o diâmetro da molécula de 20 Å, o espaço ocupado por um par de nucleotídeos de 3,4 Å e o espaço ocupado por dez pares de nucleotídeos de 34 Å, que corresponde a uma volta completa.



**FIGURA 3.6.** Molécula de DNA mostrando os quatro pares de nucleotídeos e a orientação antiparalela das cadeias açúcar-fosfato, isto é, a direção 5<sup>2</sup>→ 3<sup>7</sup> como indicado pelas setas.

O diâmetro da hélice dupla é de 20 Å, fato que levou Watson e Crick a estabelecer que purinas e pirimidinas estejam pareadas no interior da molécula. Esse pareamento é feito por **pontes de hidrogênio** que, apesar de ser uma ligação fraca, confere alta estabilidade à molécula, em razão do grande número em que ocorrem. Além dessas pontes, outra força que também é responsável pela alta estabilidade do DNA são as **interações hidrofóbicas**, isto é, as bases nitrogenadas fogem do meio aquoso e, por isso, ficam no interior da molécula.

Duas pontes de hidrogênio são responsáveis pelo pareamento exclusivo entre adenina e timina e três entre citosina e guanina (Figura 3.6). Em outras palavras, as bases da cadeia dupla de DNA devem ter uma relação quantitativa, sendo  $A = T$  e  $G = C$ , de acordo com os achados de Chargaff. Note, entretanto, que não existe restrição quanto às proporções do par AT em relação ao par GC, de modo que a quantidade de  $A + T$  não tem nenhuma relação com a quantidade  $G + C$ . De fato, essa relação pode ter qualquer valor, dependendo de qual espécie o DNA foi obtido. Conseqüentemente, embora a ordem linear de bases em uma das cadeias seja irrestrita, a seqüência de bases na cadeia oposta é predeterminada e complementar. Assim, se em uma das cadeias temos, por exemplo, a seqüência 5' AGCATT 3' a seqüência na outra cadeia será necessariamente 3' TCGTAA 5'.

A diversidade de informações é determinada pela seqüência de bases nitrogenadas, a qual, como já foi dito, pode ocorrer em qualquer ordem linear em uma das cadeias. Teoricamente, o número possível de seqüências diferentes - ou informações - é extremamente grande, e depende do número de pares de nucleotídeos existentes nas moléculas de DNA do organismo (Box 3.4). Esse número varia de acordo com sua complexidade (Tabela 3.1). Assim, organismos simples como os bacteriófagos possuem 200 mil pares de nucleotídeos por unidade, as bactérias possuem alguns milhões e fungos têm de dezenas a centenas de

**TABELA 3.1.** Número de pares de nucleotídeos por célula somática de diferentes organismos.

Organismo	Número de pares de nucleotídeos
Homem	$5,81 \times 10^9$
Bovinos	$5,08 \times 10^9$
Aves	$2,36 \times 10^9$
Carpa	$2,90 \times 10^9$
Lírio	$3,60 \times 10^{11}$
Milho	$1,36 \times 10^{10}$
Fumo	$2,18 \times 10^9$
<i>Drosophila melanogaster</i>	$3,40 \times 10^8$
Neurospora	$8,60 \times 10^7$
Carvão do milho ( <i>Ustilago maydis</i> )	$3,80 \times 10^8$
<i>Escherichia coli</i>	$4,30 \times 10^6$
Bacteriófago T <sub>2</sub>	$2,00 \times 10^5$

milhões. Já, os organismos mais complexos, como mamíferos, anfíbios e as plantas, o número de pares de nucleotídeos é ainda maior, podendo atingir algumas centenas de bilhões por célula diplóide.

**BOX 3.4. A CAPACIDADE DO DNA EM CODIFICAR INFORMAÇÕES EM COMPARAÇÃO COM A DA INFORMÁTICA.**

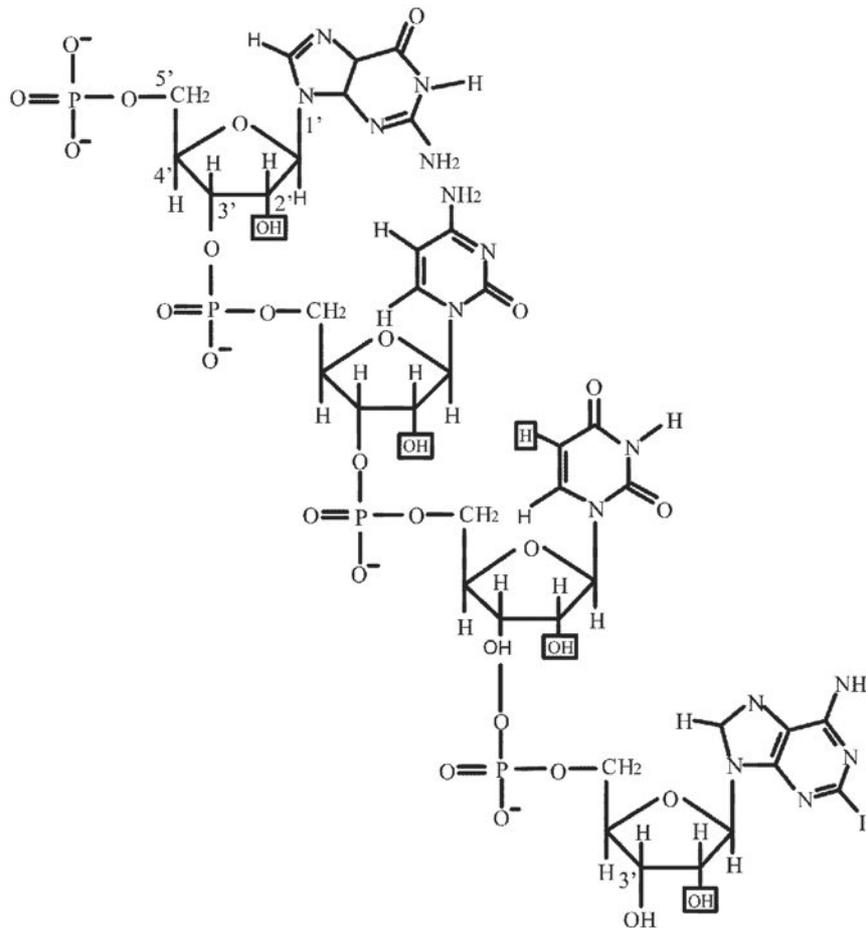
Neste ponto, devemos chamar a atenção para um fato que normalmente passa despercebido não só para os leigos, mas principalmente pelos biólogos. Geralmente, nos surpreendemos com a capacidade dos computadores modernos em armazenar e processar informações. Como eles trabalham em um sistema binário - isto é, cada impulso elétrico ou bit pode estar ligado ou desligado -, o número de informações que conseguem processar é  $2^n$ , em que  $n$  representa o número de bits que possuem. Contudo, se compararmos esses computadores com os sistemas biológicos, nota-se que esses últimos são bem mais eficientes. Nos organismos vivos, as informações são codificadas por intermédio de um sistema quaternário, isto é, as quatro bases nitrogenadas que compõem o DNA - A, G, T, C - de modo que o número de informações capazes de ser processadas é  $4^n$ , em que  $n$  representa o número de pares de nucleotídeos contidos no genoma da espécie. Assim, pode-se verificar que, se um organismo qualquer possuir um número de pares de nucleotídeos igual ao número de bits de um computador, esse organismo será capaz de processar o quadrado das informações do computador, isto é,  $4^n = (2^n)^2$ . Tomando como exemplo a espécie humana, o número de DNAs potencialmente diferentes na espécie é praticamente infinito e equivale a  $4^{2,9\text{bilhões}}$ .

Essas comparações salientam a perfeição do sistema de codificação das informações genéticas e a capacidade de armazená-las em uma estrutura de dimensões microscópicas, em oposição aos computadores que, por menores que sejam, são muito maiores do que as células. Além disso, demonstram também o incrível potencial de variabilidade dos seres vivos.

### 3.3.2 RNA

O RNA é bastante similar ao DNA, porém difere em três pontos principais: o açúcar é a **ribose**; em vez de timina temos a pirimidina **uracila** (U); e caracteriza-se por apresentar uma única cadeia, de modo que as razões A/U e G/C geralmente diferem de um (Figura 3.7). Existem três tipos principais de RNA, cada um com função específica, o **RNA mensageiro**, o **RNA ribossômico** e o **RNA transportador**. Além desses tipos, há algumas dezenas de

RNAs denominados de pequenos e que participam principalmente em função enzimática no núcleo e citoplasma (Box 3.5). Todos são transcritos a partir de uma das cadeias do DNA.



**FIGURA 3.7.** Molécula de RNA mostrando os quatro tipos de nucleotídeos. Observe que ao contrário do DNA, a molécula apresenta uma única cadeia, presença da ribose que possui OH na posição 2', e presença de uracila (U), que possui um átomo de H na posição 5.

### 3.3.2.1 RNA mensageiro (mRNA)

É responsável pelo transporte da informação genética contida no núcleo até o citoplasma, para direcionar a síntese protéica. São bastante instáveis em sistemas bacterianos e de estabilidade variada em organismos superiores, daí a quantidade relativamente pequena de mRNA nas células, cerca de 2% em relação ao total.

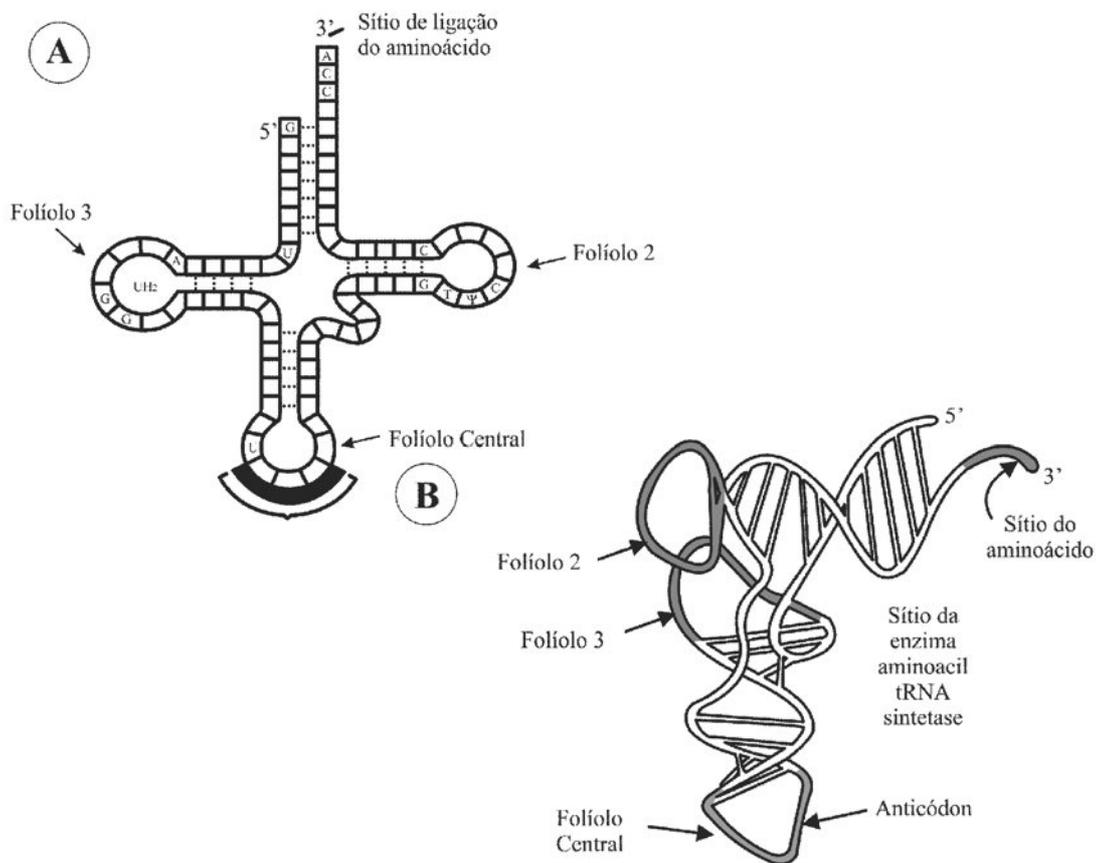
### 3.3.2.2 RNA ribossômico (rRNA)

O RNA ribossômico constitui-se na maior porção do RNA celular. Ele é também transcrito de uma das cadeias do DNA, nesse caso, a partir do DNA que se encontra em uma posição específica de alguns cromossomos, a constrição secundária, também chamada de região organizadora do nucléolo. Após o seu acúmulo no nucléolo e a associação com proteínas ribossômicas, eles são transportados para o citoplasma e formam o ribossomo, cuja função principal é participar da síntese de proteínas.

### 3.3.2.3 RNA transportador (tRNA)

São moléculas pequenas de RNA - contêm 73 a 93 nucleotídeos - que servem como receptores e transportadores de aminoácidos, tendo papel fundamental na síntese protéica. Existe pelo menos um tRNA para cada um dos vinte aminoácidos e cada um deles tem uma estrutura ligeiramente diferente do outro. Uma característica interessante dos tRNAs é que eles se enrolam sobre si mesmos, ocorrendo pareamento de bases na ordem de 50%. Esse pareamento faz com que a estrutura secundária de todos os tRNAs se assemelhe a uma folha de trevo (Figura 3.8a).

O folíolo central possui uma sequência de sete nucleotídeos, dos quais três são chamados de **anticódon** e reconhecem três nucleotídeos do mRNA, o **códon**, também pelo processo de pareamento de bases no sentido antiparalelo. A base da folha de trevo é formada pelas extremidades da molécula, que são idênticas em todos os tRNAs. A extremidade 5' possui a base G e, a 3' a sequência 5'CCA3', sendo a base A o sítio de ligação do aminoácido. Funcionalmente, entretanto, o tRNA ocorre em formato de L invertido, que corresponde à sua estrutura terciária (Figura 3.8b). As duas partes do L correspondem a dois segmentos em hélice dupla, perpendiculares e cada uma com aproximadamente dez pares de base e uma volta. Uma das extremidades do L corresponde ao local onde se liga o aminoácido, a extremidade 5'CCA3', e a outra extremidade é o anticódon. Essas duas posições fundamentais do tRNA são diametralmente opostas e facilitam o seu funcionamento no processo de síntese de proteínas. Há evidências de que a região interna do L é o local no qual se liga a enzima aminoacil-tRNA sintetase, essencial para reconhecer o aminoácido e uni-lo ao tRNA (Figura 3.8b).



**FIGURA 3.8** **A.** Esquema da estrutura secundária do tRNA mostrando o sítio de ligação do aminoácido (extremidade 3'), e o anticódon. **B** - Estrutura terciária do tRNA.

### BOX 3.5. ALGUNS TIPOS DE RNAs PEQUENOS

Algumas dezenas de RNAs pequenos já são conhecidos. Entre eles um dos grupos mais estudados é aquele envolvido com o processamento do pré-mRNA. Na realidade, o processamento é realizado por uma ribonucleoproteína constituída por cinco RNAs pequenos nucleares (snRNAs) denominados de U1, U2, U4, U5 e U6, associados a mais de uma centena de proteínas/enzimas. Essa ribonucleoproteína é denominada de spliceossomo ou SNURPS. No nucléolo, ocorre também uma estrutura ribonucleoprotéica que processa o pré-rRNA. Igualmente ela é constituída por proteínas/enzimas e os RNAs nucleolares pequenos (snoRNAs).

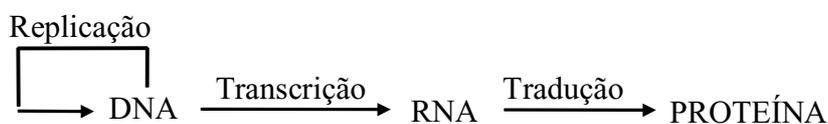
Ainda no núcleo são encontrados RNAs pequenos com funções enzimáticas como as ribozimas, que atuam também no processamento do pré-mRNA de alguns organismos,

com a função específica de cortar o pré-mRNA em uma sequência específica. Uma das ribozimas mais conhecidas é a denominada cabeça de martelo, a qual é comercializada para ser utilizada em transgênicos com o fim de cortar um dado mRNA visando a eliminar a expressão de um gene. Outro RNA pequeno utilizado em transgênico visando também eliminar a expressão de um determinado gene é o denominado RNA interferente (RNA<sub>i</sub>), o qual também atua no núcleo promovendo a degradação de mRNAs.

Já no citoplasma, um dos RNAs pequenos mais conhecidos é aquele que faz parte de uma ribonucleoproteína, cuja função é encaminhar certas proteínas que estão sendo sintetizadas para dentro do retículo endoplasmático. Esse RNA é denominado de scRNA e a ribonucleoproteína é denominada de SCYRPS. É importante lembrar que esse retículo endoplasmático é frequentemente denominado de rugoso exatamente porque essa ribonucleoproteína está atuando e forçando o ribossomo a ficar associado ao retículo.

### 3.4 FUNÇÕES DO MATERIAL GENÉTICO

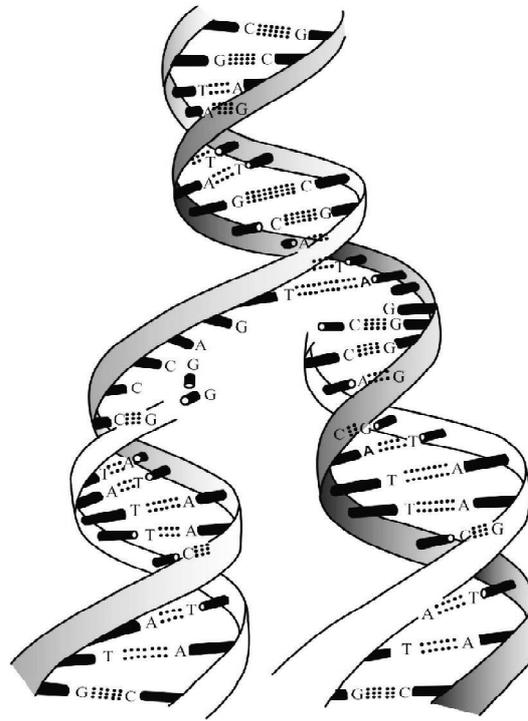
As principais funções do material genético podem ser visualizadas no seguinte diagrama, correspondendo às funções fundamentais da biologia e da vida:



#### 3.4.1 REPLICAÇÃO DO DNA

A estrutura do DNA proposta por Watson e Crick oferece a vantagem de explicar como novas moléculas de DNA podem ser exatamente copiadas da molécula pré-existente. Em vez de a molécula se replicar intacta, eles propuseram que as pontes de hidrogênio se rompem, permitindo que as cadeias complementares se separem. O pareamento específico entre as bases permite que cada cadeia simples sirva de molde para a síntese da cadeia complementar, sendo que a nova molécula apresenta uma cadeia velha e uma cadeia nova. Esse tipo de replicação é chamada **semiconservativa** e está representado na Figura 3.9. Mais detalhes são apresentados no Box 3.6.

Por esse processo de replicação do DNA, é fácil entender como a informação é transportada de uma célula para outra. No momento em que antecede às divisões celulares - na fase S da intérfase - ocorre a replicação do DNA, de modo que as células filhas recebem todas as informações contidas na célula original. Além disso, na replicação semiconservativa a possibilidade de erros é muito pequena, o que explica a precisão na passagem da informação de uma célula para outra.



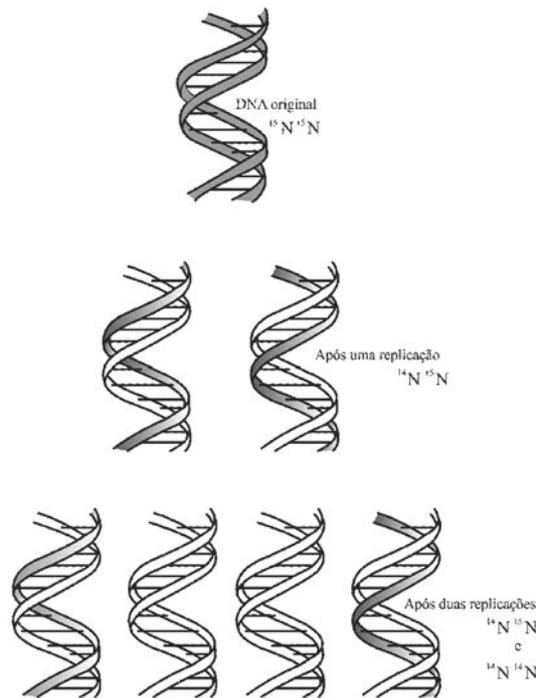
**FIGURA 3.9.** Replicação semiconservativa da molécula de DNA. Observe que cada molécula nova mantém uma cadeia de molécula velha (cinza) que funciona como molde para a síntese da cadeia complementar (branca).

A enzima responsável pela síntese de DNA é conhecida como **DNA polimerase**. Essa enzima não pode iniciar a síntese de uma nova molécula de DNA por si só; ela apenas adiciona novos nucleotídeos a uma pequena cadeia pré-existente conhecida como **primer** ou iniciador. A este primer - constituído de um segmento de RNA de cerca de 10 bases - são adicionados nucleotídeos pela DNA polimerase em uma sequência complementar à cadeia molde, segundo as regras do pareamento específico de Watson e Crick. Os nucleotídeos são acrescentados à extremidade 3' da cadeia em crescimento, de modo que a síntese sempre caminha na direção 5' → 3'. Evidentemente a cadeia molde é lida pela DNA polimerase na direção 3'→5'.

Desde que não se conheça nenhuma enzima que sintetize DNA na direção 3'→5', uma pergunta que logo surge é: como se dá a síntese das duas cadeias em cada “forquilha de replicação”? A resposta para essa questão surgiu com a descoberta de Okazaki, um cientista japonês, que a síntese de uma das cadeias é contínua, enquanto a outra é descontínua (Figura 3.10a). Na cadeia sintetizada descontinuamente, surgem diversos fragmentos contendo cerca de mil nucleotídeos conhecidos como **fragmentos de Okazaki**. Esses fragmentos, a exemplo da cadeia sintetizada continuamente, são também formados na direção 5'→3' pela DNA polimerase.

**BOX 3.6. PROVA QUE A REPLICAÇÃO DO DNA É SEMICONSERVATIVA**

Na literatura, são encontrados vários experimentos que demonstram ser a replicação do DNA semiconservativa, e um dos mais clássicos foi realizado por Meselson e Stahl em 1958. Eles sabiam que, quando bactérias são cultivadas em meio contendo  $^{15}\text{N}$ , seu DNA é mais denso que aquele de bactérias cultivadas em meio com  $^{14}\text{N}$ . O DNA pesado pode ser separado do DNA leve por meio da centrifugação em solução que forma gradiente de densidade, como o cloreto de céσιο. Inicialmente Meselson e Stahl cultivaram *E. coli* num meio contendo  $^{15}\text{N}$  por várias gerações, de maneira que todo o DNA ficasse pesado. Em seguida, transferiram essas bactérias para um meio contendo  $^{14}\text{N}$  e deixaram que elas se multiplicassem por uma geração. Amostras do DNA das bactérias filhas foram obtidas e submetidas à centrifugação. O resultado mostrou que o DNA apresentava densidade intermediária quando comparado com DNA exclusivamente de  $^{14}\text{N}$  ou  $^{15}\text{N}$ , isto é, o DNA apresentava moléculas híbridas compostas ao mesmo tempo, de  $^{14}\text{N}$  e  $^{15}\text{N}$ , como ilustrado a seguir e provaram, com esse resultado, que a replicação é semiconservativa.



Em procaríotos, ocorrem três tipos de DNA polimerase e a principal, que replica o DNA, é a DNA polimerase III. Sabe-se que essa enzima é, na verdade, um dímero, isto é, duas moléculas funcionais trabalhando unidas. Nesse dímero, uma unidade é responsável

pela síntese da cadeia contínua e a outra, pela síntese da descontínua. Como as cadeias moldes são antiparalelas, a pergunta é como o dímero DNA polimerase III produz as duas cadeias filhas no sentido 5' → 3' e antiparalelas às cadeias moldes? Uma hipótese é a cadeia molde da descontínua dobrar-se, formando um anel, próximo da forquilha de replicação, de forma que um segmento de cerca de 1000 bases assume a mesma direção da cadeia molde complementar (Figura 3.10b). Após sintetizado esse fragmento de Okazaki, a DNA polimerase III desprende-se da cadeia molde, a qual forma um novo anel para dar sequência à replicação. Os vários fragmentos de Okazaki são ligados pela enzima DNA ligase, formando, assim, a cadeia descontínua não interrompida.

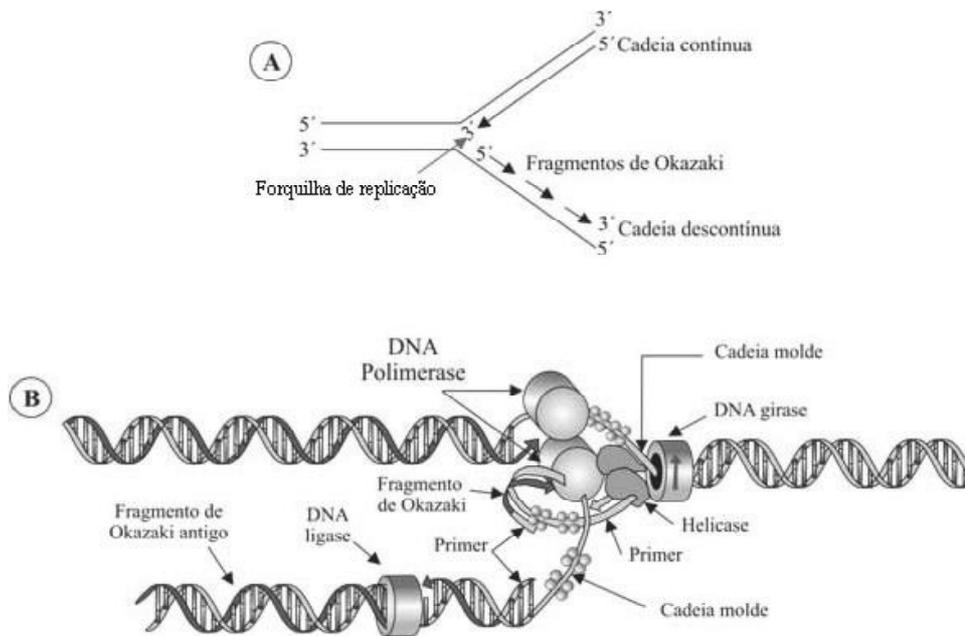
A replicação do DNA no eucarioto é realizada pela DNA polimerase alfa – pol  $\alpha$  – que sintetiza o primer para as cadeias contínua e descontínua, a DNA polimerase delta – pol  $\sigma$  – que sintetiza a cadeia descontínua, e a DNA polimerase épsilon – pol  $\epsilon$  – que sintetiza a cadeia contínua. O processo é similar ao que ocorre em procariotos, entretanto, algumas dezenas de proteínas e enzimas são envolvidas no processo. Mais detalhes constantemente atualizados sobre a replicação em eucariotos são encontrados em <http://www.dnareplication.net>.

À medida que a replicação prossegue, as cadeias velhas separam-se para servirem de molde às cadeias novas. Daí surge outra pergunta: como ocorre a separação dessas cadeias, uma vez que a molécula do DNA é helicoidal? A primeira impressão que se tem é que à medida que a separação das cadeias prossegue a parte da molécula ainda não replicada fica superenovelada. Na verdade, logo à frente da DNA polimerase III uma proteína, a **helicase**, desenrola as cadeias. No entanto, para evitar o superenrolamento, à frente da helicase, a enzima **DNA girase** realiza o corte de uma das cadeias da molécula, relaxando-a e, inclusive, enovelando-a ao contrário, efeito denominado enovelamento negativo, para facilitar a separação das cadeias moldes pela helicase.

Pelo envolvimento dessas poucas enzimas e proteínas na replicação, já se percebe que ela é muito complexa. O número de moléculas envolvidas, na verdade, é muito maior, especialmente nos eucariotos, nos quais o DNA encontra-se associado às histonas. Além de complexa, a replicação é extremamente rápida. Em *E. coli*, por exemplo, em condições ideais de crescimento, estima-se que sejam adicionados cerca de 850 nucleotídeos por segundo e a bactéria gasta 100 minutos para replicar seu cromossomo. Nos eucariotos, em razão da associação do DNA com as **histonas**, a velocidade de replicação é cerca de dez vezes mais lenta do que nos procariotos.

Em primeiro lugar, é necessário mencionar que a replicação inicia-se em local específico da molécula do DNA, a **origem de replicação**. Nesse local, o DNA possui uma sequência particular de bases que é reconhecida pela DNA polimerase e demais enzimas, proteínas e cofatores envolvidos no início da replicação. Na *E. coli*, que possui apenas um cromossomo

circular, existe apenas uma origem de replicação, a partir da qual a replicação é bidirecional, isto é, formam-se duas forquilhas de replicação que caminham em sentidos opostos e na mesma velocidade.



**FIGURA. 3.10.** Modelo de replicação da molécula de DNA, mostrando que a direção de síntese das cadeias é sempre 5' → 3' (A). Envolvimento do dímero DNA polimerase na replicação das duas cadeias de DNA; observe que uma das moléculas sintetiza a cadeia contínua e a outra a cadeia descontinua por meio dos fragmentos de Okazaki; nesse último caso o molde forma um anel, para permitir a síntese também na direção 5' → 3', e que a enzima caminhe na direção da forquilha de replicação (B).

A menor velocidade de replicação do DNA nos eucariotos, associada ao fato de eles possuírem muito mais DNA do que as bactérias, permitiu estimar que uma célula eucarioto gastaria mais de dois meses para replicar o DNA de seus cromossomos. No entanto, sabemos que a fase S do ciclo celular gasta em torno de seis horas para replicar todos os cromossomos. Diante desses fatos, como ocorre a replicação nos eucariotos?

Nos eucariotos, além da replicação ocorrer simultaneamente nos vários cromossomos, em cada um existem até 3.000 regiões, em que as replicações iniciam-se ao mesmo tempo, como na fava - *Vicia faba* -, o que viabiliza a replicação de uma enorme quantidade de DNA em um período de tempo relativamente muito menor do que nos procariotos. O fragmento de DNA replicado a partir de uma origem de replicação constitui um **replicon**. Assim, o cromossomo da *E. coli* corresponde a um único replicon, enquanto que apenas um cromossomo de fava possui em média 3000 replicons (Box 3.7).

**BOX 3.7. RAPIDEZ E PRECISÃO DA REPLICAÇÃO DO DNA**

Como o DNA é uma molécula que contém a informação genética codificada, cada par de bases é considerado como uma letra da mensagem. Utilizando novamente a espécie humana como exemplo, em cada célula somática temos  $5,81 \times 10^9$  pares de bases. Para ocorrer apenas uma mitose é necessário que todo esse DNA seja replicado na intérfase pré-mitótica. Se tal mensagem fosse digitada em páginas como do presente livro, caberiam 100 pares de bases por duas linhas e 1900 pares de bases por página. O total de DNA de uma célula somática gastaria três milhões de páginas ou 6.000 livros de 500 páginas, que deveriam ser digitados em seis horas. Por quantas pessoas?

É necessário considerar que na replicação ocorre erro, em média de um par de bases entre cada um milhão. No total de DNA de uma célula humana é esperado cerca de 12.000 nucleotídeos inseridos erradamente em cada replicação e que corresponderia a dois erros por livro. Seria fantástico se o presente livro tivesse apenas dois erros. É importante lembrar que nem toda alteração no DNA ocorrida na replicação resulta efetivamente em erro, porque algumas delas são variações genéticas geradas que se tornam importantes para a sobrevivência da espécie.

A taxa de erro na replicação é considerada baixa porque existem mecanismos de reparo desses erros e entre eles, um dos principais é executado pela própria DNA polimerase. Essa função é chamada de revisão editorial e é semelhante a um datilógrafo reler o texto recém-digitado a fim de verificar se existe algum erro.

Outra função importante da DNA polimerase é a retirada do primer de RNA e sua substituição por uma cadeia de DNA. Essa função é executada pela DNA polimerase I em procarionotos e por outras enzimas em eucariotos.

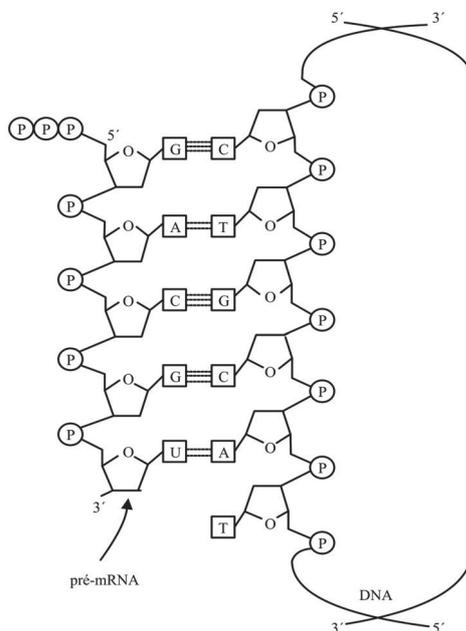
**3.4.2 Transcrição-Síntese de RNA**

A função de todo gene - DNA - é produzir uma cadeia polipeptídica, isto é, uma proteína. No entanto, em eucarioto sabemos que o DNA se encontra no núcleo das células, enquanto a síntese protéica se dá no citoplasma. Evidentemente, o DNA não pode sair do núcleo para dirigir a síntese protéica no citoplasma. Assim, o DNA transfere suas informações para moléculas de RNA, as quais atravessam a membrana nuclear para comandar a síntese protéica no citoplasma. Esse processo de transferência de informações do DNA para o RNA chama-se **transcrição**.

Ao contrário do que ocorre no processo de replicação do DNA, a transcrição não é feita ao longo de todo o comprimento da molécula de DNA, mas sim de genes individuais ou

grupos de genes seletivamente escolhidos. Para isso, a enzima **RNA polimerase** se acopla à determinada região da molécula de DNA a ser transcrita, o **sítio promotor**. Em procariotos a RNA polimerase reconhece o sítio promotor na sequência específica  $T_{82}T_{84}G_{78}A_{65}C_{54}A_{45}$  que se situa na posição em torno de -35, isto é, 35 bases antes da primeira transcrita. Nessa sequência o número no índice de cada nucleotídeo corresponde à frequência média que ele ocorre nos promotores já estudados. A mesma enzima promove a separação das cadeias do DNA na sequência  $T_{80}A_{95}T_{45}A_{60}A_{50}T_{96}$ , também denominada de sítio TATA. Esse sítio TATA está localizado na posição em torno de -10. Essas duas sequências são da cadeia senso do DNA e em um promotor ideal elas estão distantes de 16-18 nucleotídeos. Em eucariotos o reconhecimento do sítio promotor bem como a separação das duas cadeias do DNA é feita por um complexo enzimático e somente após, é que se liga a RNA polimerase para realizar a transcrição.

A síntese da molécula de RNA se dá na direção  $5' \rightarrow 3'$  pela incorporação de nucleotídeos, os quais são complementares aos nucleotídeos de uma das cadeias do DNA. A essa cadeia transcrita dá-se o nome de **cadeia molde** ou **antissenso**. A transcrição prossegue até que um ponto de terminação seja encontrado. A enzima e a molécula de RNA são, então, liberadas, e a molécula de DNA se refaz por meio da reconstituição das pontes de hidrogênio que haviam sido rompidas no início do processo (Figura 3.11).



**FIGURA 3.11.** Transcrição do pré-mRNA, utilizando como molde a cadeia antissenso do DNA. O pré-mRNA é sintetizado na direção  $5' \rightarrow 3'$ , sendo assim antiparalela e complementar à cadeia antissenso do DNA.

Em procariotos, a molécula de RNA transcrita a partir de um gene se constitui no mRNA propriamente dito, sendo, em seguida, utilizada na síntese de proteínas e, posteriormente, degradada. Por outro lado, em eucariotos a situação é bem mais complexa, ocorrendo uma série de modificações do RNA antes que ele possa servir como mediador na síntese de proteínas.

Essas modificações são necessárias porque a grande maioria dos genes de organismos eucariotos é interrompida, isto é, o DNA possui segmentos que codificam aminoácidos, os **éxons**, separados por regiões que não os codificam, os **íntrons**. Os DNAs são transcritos em uma longa molécula de RNA, com tamanhos variáveis, chamada **RNA nuclear heterogêneo – hnRNA ou pré-mRNA-**, que, por sua vez, deve ser processada para produzir um mRNA contendo apenas éxons, ou seja, sequências que codificam aminoácidos. Os segmentos que não codificam aminoácidos, íntrons, são cortados por enzimas específicas chamadas **endonucleases**. Após os cortes, os éxons são religados para formar a molécula de mRNA completa.

É importante lembrar que a mensagem está codificada no mRNA na sua sequência de bases. Portanto, no processo de retirada dos íntrons, qualquer base de um íntron que não seja retirada ou de um éxon que seja erradamente retirada altera a mensagem. Assim, que mecanismo seria tão preciso para evitar erros tão pequenos como esses? Observando-se a sequência de bases dos íntrons, constatou-se que 100% deles iniciam, em 5' com GU e terminam em 3' com AG. Portanto, essas sequências são fundamentais não só para a identificação do íntron como também para a sua correta retirada. O reconhecimento dessas sequências é feito por alguns dos RNAs nucleares pequenos (Boxes 3.5 e 3.8).

### **BOX 3.8. PROCESSAMENTO ALTERNATIVO DO pré-mRNA**

Processamento alternativo significa que um único pré-mRNA pode ser processado de formas alternativas em órgãos ou organismos diferentes, resultando em mRNAs que codificam proteínas diferentes. Um dos exemplos bem estudados ocorre com o pré-mRNA do gene *dsx* em *Drosophila*. O pré-mRNA desse gene tem seis éxons e cinco íntrons e sofre processamentos diferentes no macho e na fêmea, exatamente para determinar a diferenciação sexual da mosca.

No processamento do pré-mRNA na fêmea, o íntron 3 é corretamente retirado e o mRNA fica com o éxon 4 no qual existe um ponto final de tradução. Portanto, a proteína produzida contém uma sequência de aminoácidos derivada dos éxons 1, 2, 3 e 4 até no referido ponto final. Essa proteína atua no desenvolvimento da mosca reprimindo a expressão de genes masculinizantes.

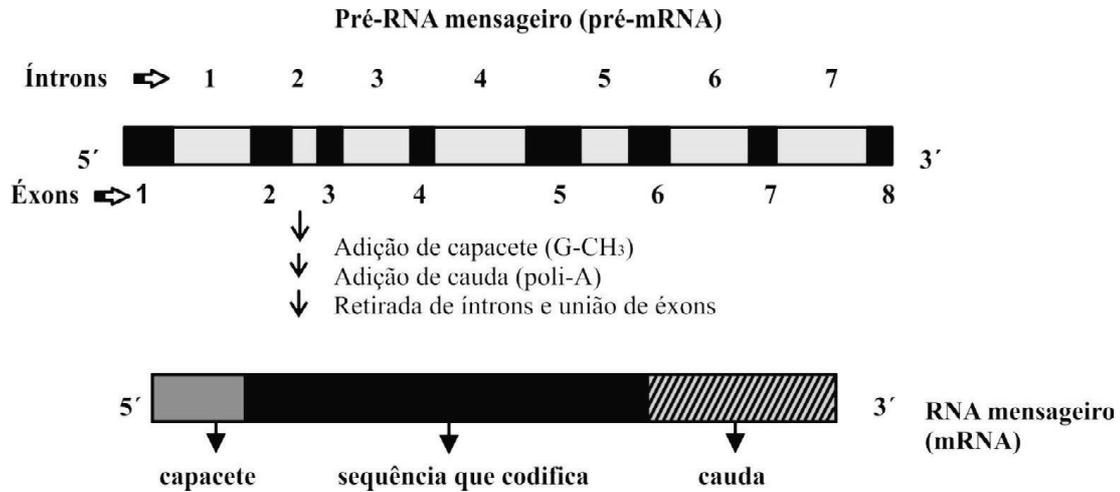
Quando ocorre o processamento do pré-mRNA no macho, o spliceossomo reconhece a extremidade 5' do íntron 3 e a extremidade 3' do íntron 4 e elimina os dois íntrons mais o éxon 4 que ocorre entre esses dois íntrons. Em consequência, o mRNA formado contém os éxons 1, 2, 3, 5 e 6. Esse mRNA orienta a síntese de uma nova proteína cuja função é bloquear a diferenciação sexual feminina.

No processamento para eliminação de um ou mais íntrons/éxons, o spliceossomo reconhece a extremidade 5' do íntron por meio de snRNA U1 e U6, enquanto que a outra extremidade 3' é reconhecida pelo U5. O snRNA U2 reconhece uma terceira sequência dentro do íntron. Os reconhecimentos dessas sequências são acompanhados por reações em que, inicialmente, a extremidade 5' do íntron é cortada e levada até próximo da extremidade 3', por meio de pareamento entre os snRNAs (Us). A extremidade 5' ataca quimicamente a extremidade 3', promovendo a união dos dois éxons adjacentes e eliminação do íntron.

A sequência de reações é tão bem delineada de tal forma que somente após o término do processamento e produção do mRNA que ele é levado para o citoplasma. Isso só é possível porque parte do complexo protéico do spliceossomo irá também fazer parte da ribonucleoproteína que contém o mRNA para o seu transporte através do poro nuclear para o citoplasma.

Outras modificações sofridas pelo pré-mRNA são a adição de uma guanina metilada na extremidade 5', o **capacete**, e a formação de uma **cauda de poli-A**. Tanto o capacete quanto a cauda de poli-A funcionam no sentido de proteger o mRNA contra a ação destrutiva de certas enzimas. O capacete facilita também a ligação do mRNA aos ribossomos, durante a síntese protéica. Após ocorrer todas as alterações do pré-mRNA, ele passa a ser o mRNA.

Todas as reações de processamento do pré-mRNA se dão no núcleo da célula. A molécula de RNA é então liberada para o citoplasma, na forma de um mRNA maduro capaz de ser traduzido na forma de uma cadeia polipeptídica. Na passagem do núcleo para o citoplasma, o mRNA associa-se a proteínas, que o protegem contra endo e exonucleases. Ao complexo mRNA e proteínas dá-se o nome de **informossomo**. A Figura 3.12 mostra os passos envolvidos no processamento que dá origem ao mRNA da ovalbumina, uma proteína que se encontra nos ovos de aves.



**FIGURA 3.12.** Esquema de processamento do pré-mRNA transcrito do gene da ovoalbumina de galinha, para produção do mRNA. As regiões que não serão traduzidas (íntrons) são representadas em branco e as regiões a serem traduzidas (éxons) em preto. Logo após o início da transcrição, é adicionada uma guanina metilada na extremidade 5', o capicete (cinza claro) e, após o término, é adicionada uma cauda de poliadenina (poli-A) na extremidade 3' (tracejado). Em seguida, são retirados os íntrons por endonucleases e ocorre a união dos éxons.

### 3.4.3 Tradução – Biossíntese da cadeia polipeptídica

A descoberta de que as proteínas são arranjos lineares de aminoácidos à semelhança dos nucleotídeos de um ácido nucléico, levou à hipótese de que a sequência dos aminoácidos na proteína seja especificada pela sucessão dos nucleotídeos de um gene. Evidências a esse respeito surgiram quando estudos de sequenciamento de proteínas foram correlacionados com a sequência exata de nucleotídeos do DNA. Como vimos na transcrição, o mRNA é uma cópia fiel da mensagem genética codificada no DNA e, após ser transportado para o citoplasma, ele está pronto para ser traduzido em uma cadeia polipeptídica.

No entanto, para que esse processo possa ser entendido é necessário que compreendamos como a informação hereditária é codificada. Assim, a partir do momento em que foi estabelecida a relação entre a sequência de nucleotídeos do DNA e a de aminoácidos da proteína, foi necessário levantar a hipótese de um **código genético**. O problema básico desse código era indicar de que modo a informação escrita com quatro letras – quatro pares de nucleotídeos do DNA - formaria um dicionário contendo vinte palavras - 20 aminoácidos da proteína - uma vez que toda cadeia polipeptídica é constituída por, no máximo, 20 aminoácidos diferentes.

### *A idéia de um código genético*

Na realidade o código genético é muito semelhante a um idioma qualquer. Considerando essa analogia, sabemos que o idioma português, por exemplo, consta essencialmente de um dicionário de palavras e as regras para uso dessas palavras – a gramática da língua portuguesa. Portanto, para se conhecer o “idioma” código genético basta conhecermos o dicionário de palavras desse código e as regras para a utilização dessas palavras para se construir uma frase, isto é, uma cadeia polipeptídica.

Inicialmente, procurou-se conhecer o dicionário de palavras, por meio dos trabalhos de decifração do código genético, que passaram por duas etapas distintas. A primeira fase consistiu apenas de idéias e especulações lançadas por pesquisadores, baseadas no conhecimento da estrutura do DNA e das proteínas. Uma dessas idéias era a de que, no mínimo, seria necessária a combinação de três nucleotídeos do mRNA para codificar cada aminoácido. A razão disso era porque com apenas um nucleotídeo poderiam ser codificados somente quatro aminoácidos diferentes, ou seja,  $4^1$ . Se os quatro nucleotídeos se combinassem dois a dois, o número máximo de aminoácidos diferentes seria  $4^2 = 16$ . Por outro lado, combinações de três nucleotídeos dariam  $4^3 = 64$  combinações diferentes possíveis, o que seria mais que suficiente para codificar os vinte aminoácidos.

### *Decifrando o código genético*

A decifração definitiva do código genético teve seu início na década de sessenta, após a descoberta da síntese de cadeias polipeptídicas in vitro por meio do uso de mRNA sintético de composição de bases conhecida. Nesses experimentos, a síntese do mRNA foi efetuada pela enzima polinucleotídeo fosforilase, a qual não utiliza nenhuma cadeia de DNA como molde, de modo que a sequência de nucleotídeos depende exclusivamente da composição de bases no meio. Por exemplo, se o único nucleotídeo presente for o UDP – uridina difosfato - o mRNA será um homopolímero contendo apenas uracila.

O primeiro **códon** - sequência de três nucleotídeos que codifica um determinado aminoácido - a ser identificado foi o correspondente ao aminoácido fenilalanina. Foi verificado que, quando um mRNA sintético contendo apenas uracila (poli-U) era usado para dirigir a síntese protéica in vitro, a proteína formada continha apenas fenilalanina. Portanto, o códon 5' UUU 3' codifica o aminoácido fenilalanina. Em seguida, descobriu-se que o poli-A, formado a partir do ADP – adenosina difosfato - produzia a poli-lisina e o poli-C, formado a partir de CDP – citidina difosfato - produzia a poli-prolina. Portanto, 5' AAA 3' é o códon para o aminoácido lisina, enquanto 5' CCC 3' é o códon para prolina.

Alguns códons contendo mais de um tipo de nucleotídeo foram identificados usando-se mRNAs sintéticos com dois tipos de bases. Por exemplo, se estiverem presentes na

reação dois nucleotídeos diferentes, digamos ADP e CDP, na proporção de 70% e 30%, respectivamente, o mRNA conterá 70% de A e 30% de C. Note, entretanto, que a sequência das bases é desconhecida, embora possa se prever a composição do mRNA como um todo. Por exemplo, no presente caso a probabilidade de ocorrer a sequência 5' AAA 3' é de  $0,7 \times 0,7 \times 0,7$ , ou seja, 0,343. Isso é, 34,3% dos códons são presumivelmente 5' AAA 3'. As probabilidades dos demais códons são:

$$5' AAC 3' = 5' ACA 3' = 5' CAA 3' = 0,7 \times 0,7 \times 0,3 = 0,147$$

$$5' ACC 3' = 5' CAC 3' = 5' CCA 3' = 0,7 \times 0,3 \times 0,3 = 0,063$$

$$5' CCC 3' = 0,3 \times 0,3 \times 0,3 = 0,027$$

A identificação dos códons e dos respectivos aminoácidos pode ser feita relacionando-se as frequências esperadas de cada códon com as dos aminoácidos encontrados na cadeia polipeptídica. Por exemplo, considerando-se o mRNA anterior, a determinação de que o aminoácido asparagina se encontra na frequência de aproximadamente 14,7% indica que ele é codificado por um códon contendo 2A e 1C. Entretanto, esse método não é preciso o bastante para distinguir a sequência correta dos nucleotídeos dos códons com a mesma composição de bases, como por exemplo, não foi possível identificar se o códon da asparagina é o 5' AAC 3', ou o 5' ACA 3', ou o 5' CAA 3'.

O método mais eficiente para a determinação dos 64 códons foi desenvolvido em 1964 por Nirenberg e Leder (Figura 3.13). Eles descobriram que moléculas de tRNA carregadas com seu aminoácido específico se ligam ao complexo ribossomo - mRNA. Por exemplo, quando poli-U é misturado com ribossomos, somente tRNA da fenilalanina se prende àquele complexo. Além do mais, um aspecto importante dessa técnica é que a ligação específica do tRNA não requer longas moléculas de mRNA. De fato, apenas um tri nucleotídeo é suficiente para promover a ligação. Assim, o tri nucleotídeo 5' UUU 3' resulta na ligação tRNA - fenilalanina, e o trinucleotídeo 5' AAC 3' promove a ligação tRNA - asparagina. Por meio dessas técnicas, os pesquisadores decifram os 61 códons que codificam todos os vinte aminoácidos (Tabela 3.2).

Para se conhecer o significado de um códon, como o 5' AUG 3', por exemplo, basta localizarmos na Tabela 3.2 a primeira letra do códon que está na posição 5' - A -, seguida da segunda letra no meio do códon - U - e, finalmente a terceira letra do códon que está na posição 3' - G -. Veja que essa sequência codifica o aminoácido metionina.

**FIGURA 3.13.** Esquema do procedimento desenvolvido por Nirenberg e Leder por meio do qual RNAs de apenas três nucleotídeos foram traduzidos. Quando o RNA se ligava no ribossomo e era reconhecido pelo tRNA-aa, formava-se um complexo que era retido por um filtro. Na figura, o RNA utilizado era 5' UGG 3' que foi reconhecido pelo tRNA-Trp, cujo anticódon é 5 ACC 3'

### ***Propriedades do código genético***

No processo de síntese de proteínas, a partir da informação genética contida no DNA, é utilizado o dicionário do código, bem como um conjunto de propriedades do material genético à semelhança das regras gramaticais de um idioma. Fazendo essa analogia, as regras gramaticais, ou as principais propriedades do código genético são as seguintes:

- **A unidade do código genético é constituída de três letras**

Como vimos anteriormente, o número mínimo de nucleotídeos necessários em cada palavra do código - códon -, para codificar todos os vinte aminoácidos que participam da síntese das proteínas, deveria ser de três letras. A confirmação sobre essa proposição ocorreu a partir de 1961, com trabalhos realizados com o fago T4 por Crick e colaboradores. Além disso, outras evidências permitiram a constatação de códons de três nucleotídeos, como por exemplo, o mRNA com sequência 5' UGU GUG UGU 3', sintetizado por Khorana, produziu uma cadeia polipeptídica com dois tipos de aminoácidos, isto é, cisteína-valina-cisteína, indicando que o códon de três letras 5' UGU 3' codifica cisteína e 5' GUG 3' codifica valina. Nota-se, ainda, nesse último exemplo que a razão número de nucleotídeos do RNA dividido pelo número de aminoácidos do polipeptídeo é 3.

**TABELA 3.2.** O dicionário do código genético.

Primeira letra (posição 5')	Segunda letra				Terceira letra (posição 3')
	U	C	A	G	
U	Fenilalanina (Phe)	Serina (Ser)	Tirosina (Tyr)	Cisteína (Cys)	U
	Fenilalanina (Phe)	Serina (Ser)	Tirosina (Tyr)	Cisteína (Cys)	C
	Leucina (Leu)	Serina (Ser)	Final de Tradução	Final de Tradução	A
	Leucina (Leu)	Serina (Ser)	Final de Tradução	Triptofano (Trp)	G
C	Leucina (Leu)	Prolina (Pro)	Histidina (His)	Arginina (Arg)	U
	Leucina (Leu)	Prolina (Pro)	Histidina (His)	Arginina (Arg)	C
	Leucina (Leu)	Prolina (Pro)	Glutamina (Gln)	Arginina (Arg)	A
	Leucina (Leu)	Prolina (Pro)	Glutamina (Gln)	Arginina (Arg)	G
A	Isoleucina (Ile)	Treonina (Thr)	Asparagina (Asn)	Serina (Ser)	U
	Isoleucina (Ile)	Treonina (Thr)	Asparagina (Asn)	Serina (Ser)	C
	Isoleucina (Ile)	Treonina (Thr)	Lisina (Lys)	Arginina (Arg)	A
	Metionina (Met)	Treonina (Thr)	Lisina (Lys)	Arginina (Arg)	G
G	Valina (Val)	Alanina (Ala)	Ác. aspártico (Asp)	Glicina (Gly)	U
	Valina (Val)	Alanina (Ala)	Ác. aspártico (Asp)	Glicina (Gly)	C
	Valina (Val)	Alanina (Ala)	Ác. glutâmico (Glu)	Glicina (Gly)	A
	Valina (Val)	Alanina (Ala)	Ác. glutâmico (Glu)	Glicina (Gly)	G

• **O código tem ponto inicial**

A leitura da cadeia de mRNA sempre começa por um ponto determinado. Esse ponto é o códon 5' AUG 3', que permite a utilização do aminoácido formil-metionina em procariotos e metionina nos eucariotos. O início da tradução sempre no local correto se dá graças a uma sequência anterior ao códon 5' AUG 3', que é complementar ao rRNA da subunidade menor do ribossomo, de modo que, quando o mRNA se associa com o ribossomo, o códon 5' AUG 3' se posiciona no local de início da tradução. Quando o códon 5' AUG 3' se encontra no meio da cadeia do mRNA, a metionina, sem o radical formil, é incorporada à cadeia polipeptídica. Quem adiciona o formil-metionina no início da cadeia polipeptídica, no sítio P do ribossomo, é um tRNA especial.

Embora a formil-metionina seja o ponto inicial da síntese protéica, nem todas as proteínas se iniciam com este aminoácido. Há enzima que remove apenas o radical formil de algumas cadeias polipeptídicas e às vezes remove a formil-metionina, ou mesmo mais de um aminoácido, de modo que nem sempre ela é o primeiro aminoácido de uma cadeia polipeptídica. Entretanto, nos eucariotos, uma situação diferente ocorre com os polipeptídeos que são exportados do citossol para outras organelas ou mesmo para o exterior da célula, os quais possuem uma sequência de 15 a 30 aminoácidos, na extremidade amino-terminal, denominada de sequência guia. Essa sequência tem a finalidade de reconhecer o local da membrana do retículo endoplasmático, no qual o polipeptídeo será exportado. Após o polipeptídeo atravessar a membrana, a sequência-guia é eliminada por enzimas. Nesse caso, o primeiro aminoácido do polipeptídeo funcional não é nem o primeiro ou segundo transcrito, mas pode variar do décimo sexto ao trigésimo primeiro.

• **O código não é sobreposto**

Em um código não sobreposto, cada grupo de três bases especifica somente um aminoácido, por exemplo, seja a sequência 5' ACUGCA 3'. Essa sequência codifica apenas dois aminoácidos - 5' ACU 3' : Treonina e 5' GCA 3' : Alanina. Por outro lado, se o código fosse sobreposto em duas letras, esta mesma sequência codificaria quatro aminoácidos – 5' ACU 3' : Treonina, 5' CUG 3' : Leucina, 5' UGC 3' : cisteína e 5' GCA 3' = Alanina. Note que as duas primeiras letras do segundo códon são as duas últimas do primeiro, as duas primeiras do terceiro são as duas últimas do segundo e, assim, sucessivamente, isto é, dois códons vizinhos sempre usam duas letras comuns – são sobrepostos.

A conclusão sobre a não sobreposição do código pode ser obtida mediante estudos da sequência de aminoácidos em mutantes. Suponha, por exemplo, que na sequência anterior a guanina seja trocada por citosina; no caso de não sobreposição haverá a troca de apenas um aminoácido, isto é, a alanina será trocada por prolina. Já, no caso de sobreposição em duas letras, serão alterados vários códons e, conseqüentemente, mais de um aminoácido, do seguinte modo: 5' ACU 3' : Treonina, 5' CUC 3' : Leucina, 5' UCC 3' : Serina e 5' CCA 3' : Prolina.

Estudos da sequência de aminoácidos em mutantes para a capa protéica do vírus do mosaico do fumo - TMV - demonstraram que apenas um aminoácido é alterado e que, portanto, o código genético não é sobreposto.

Outra evidência a favor da não sobreposição de códons é obtida a partir da constatação de que nos polipeptídeos, um aminoácido pode ter como vizinho qualquer um dos aminoácidos que participam das proteínas. Esse fato não ocorreria se o código fosse sobreposto em uma ou duas letras. Com sobreposição de duas letras, por exemplo, a sequência 5' AUUC 3' codificaria isoleucina e fenilalanina em um dado polipeptídeo. Como vimos, nesse polipeptídeo o aminoácido vizinho da isoleucina é a fenilalanina, porque o nucleotídeo seguinte ao códon 5' AUU 3' é a citosina e, no seu lugar, poderia ocorrer mais três outros nucleotídeos vizinhos: o que possui U, produzindo o códon 5' UUU 3': fenilalanina; o que possui A, produzindo o códon 5' UUA 3': leucina; e o que possui G, produzindo o códon 5' UUG 3': leucina. Portanto, a sobreposição em duas letras implica que nos polipeptídeos, o aminoácido isoleucina poderia ter apenas outro aminoácido como vizinho a leucina. Usando o mesmo raciocínio, a fenilalanina poderia ser antecedida por apenas três diferentes, além da isoleucina, que são a valina, leucina e fenilalanina. Portanto, um aminoácido qualquer na cadeia polipeptídica poderia ser antecedido no máximo por quatro aminoácidos diferentes e sucedido por no máximo dois.

#### • O código não tem vírgulas

Poderia se pensar que para ocorrer a leitura correta dos códons fosse necessário a separação dos mesmos por um nucleotídeo que funcionaria como uma vírgula. Assim, numa sequência teríamos, por exemplo, vACUvGCAv... em que “v” seria a vírgula. De fato, não existe nenhum nucleotídeo diferente dos quatro normais que ocorrem no RNA para preparar os códons para a leitura. A sua precisão depende do início correto a partir do ponto inicial. Além desse fato, não se pode aceitar que um dos quatro nucleotídeos normais funcione como vírgula, pois, pelo menos três dos polinucleotídeos sintéticos formados com um único tipo de nucleotídeo - poli A, poli U e poli C - foram traduzidos. Portanto, é impossível que os quatro tipos de nucleotídeos funcionem como vírgula.

#### • O código é degenerado

Observando-se a tabela do código genético (Tabela 3.2), notamos que a maioria dos aminoácidos é codificada por mais de um códon diferente. Evidentemente, esse fato seria esperado, uma vez que são 64 os códons possíveis, enquanto temos apenas vinte aminoácidos. Essa propriedade de existir códons sinônimos é chamada **degenerescência** do código.

A degenerescência é variada entre os vinte aminoácidos. Há aqueles codificados por até seis códons diferentes, como é o caso da serina, arginina e leucina; cinco aminoácidos são codificados por quatro códons, como a valina; apenas a isoleucina é codificada por três códons. Porém, nove aminoácidos, entre eles a fenilalanina, são codificados por dois códons

cada. A degenerescência do código só não ocorre para dois aminoácidos, metionina e triptofano, codificados por 5' AUG 3' e 5' UGG 3', respectivamente.

Apesar do código ser degenerado para a maioria dos aminoácidos, ele o é principalmente em relação à terceira base do códon na posição 3'. Note na tabela 3.2, que todos os aminoácidos para os quais o código é degenerado, as duas primeiras bases do códon são as mesmas, com exceção apenas da leucina, serina e arginina.

No pareamento do códon do mRNA com o anticódon do tRNA, de forma antiparalela, a terceira base do códon - posição 3' - pareia-se com a primeira do anticódon - posição 5'. Sabe-se que esse pareamento não é sempre perfeito, isto é, quando a primeira base do anticódon é a uracila, ela pareia-se com a adenina ou guanina do códon e, quando a primeira base do anticódon é a guanina, ela pareia-se com citosina ou uracila do códon. Um caso ainda mais anormal é quando a primeira base do anticódon é a inosina (I), homóloga da adenina, que se pareia com adenina ou uracila ou com citosina. De todos esses pareamentos, apenas os perfeitos - uracila com adenina e guanina com citosina - são pareamentos fortes. Os demais são fracos e são chamadas de oscilantes. Assim, são esses pareamentos oscilantes que contribuem para que o código seja mais degenerado na terceira base do códon. Para um dos três aminoácidos em que seus códons diferem nas duas primeiras bases, são necessários tRNAs diferentes que sempre fazem pareamentos fortes com as mesmas. Por exemplo, dois códons que codificam a serina são 5'UCU 3' e 5'AGU 3', e requerem tRNAs com anticódons diferentes, respectivamente, 5'AGA 3' e 5'ACU 3'.

A degenerescência do código genético, ao contrário do que se poderia pensar, traz alguma vantagem evolutiva no sentido de torná-lo mais estável contra os efeitos da mutação. Por exemplo, a troca de um nucleotídeo na terceira posição do códon 5' GCU 3' não traria nenhum efeito na cadeia polipeptídica, uma vez que 5' GCC 3', e 5' GCA 3' e 5' GCG 3' codificam para o mesmo aminoácido, isto é, a alanina.

#### • O código não é ambíguo

Um códon seria ambíguo se ele codificasse para dois ou mais aminoácidos diferentes. Aceita-se que em condições naturais o código não é ambíguo. A ambiguidade pode ser observada somente em certas condições artificiais. Por exemplo, alterações no pH ou temperatura ou presença de estreptomicina no meio de cultura fazem com que, em *E. coli*, o códon 5' UUU 3' codifique para fenilalanina bem como para leucina, treonina e isoleucina.

#### • O código é universal

Uma das questões mais intrigantes que surgiu durante a decifração do código era se os códons especificam os mesmos aminoácidos para todos os organismos. A universalidade do código foi demonstrada quando mRNA e ribossomos de reticulócitos de coelho foram corretamente reconhecidos por tRNAs de *E. coli*, havendo síntese de hemoglobina.

Atualmente, sabe-se que o código genético é universal no mundo vivo, ocorrendo apenas pouquíssimas exceções de alguns códons com significados diferentes em mitocôndrias de algumas espécies. Essa universalidade sugere que todos os seres vivos têm um ancestral comum. Um fato interessante, no entanto, é que os seres vivos exibem uma diversidade extremamente grande, tanto em relação aos seus aspectos e comportamentos, quanto às proporções G/C e A/T, porém, o conjunto de proteínas e enzimas necessárias para a sobrevivência é similar em todos eles. Diante desse fato, o código só pode ser universal porque ele também é degenerado. Graças à universalidade do código é que foi possível desenvolver a tecnologia de obtenção dos organismos **transgênicos**, como será comentado no Capítulo 17.

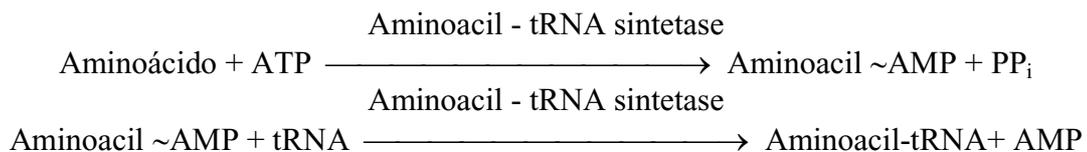
• **O código tem ponto final**

O término da leitura de um mRNA é determinado por códons de terminação. São três os códons de terminação - 5' UAA 3', 5' UAG 3' e 5' UGA 3' -, os quais não são lidos por tRNAs, mas possuem afinidades para ligarem-se a proteínas específicas conhecidas por **fatores de liberação**.

*O processo da tradução*

A síntese protéica é também conhecida como tradução, porque a linguagem escrita com as quatro letras correspondentes aos nucleotídeos deve ser traduzida na forma de uma cadeia polipeptídica com os vinte aminoácidos. A tradução é um processo bem mais complexo que a replicação e transcrição do DNA, pois envolve a participação de mais de uma centena de macromoléculas, tais como enzimas, tRNAs, mRNA, além das estruturas macromoleculares responsáveis pela síntese propriamente dita, os ribossomos.

Um dos primeiros passos na síntese protéica é a **ativação dos aminoácidos** e o **carregamento dos tRNAs**, do seguinte modo:



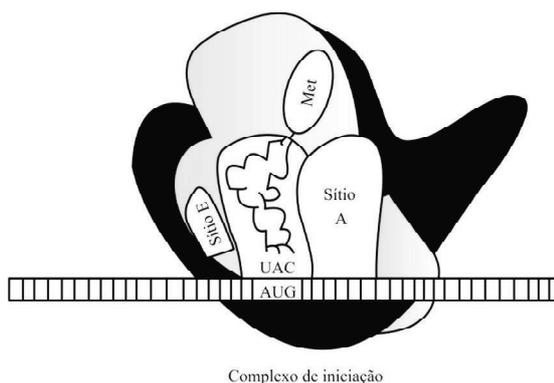
A **aminoacil tRNA sintetase** é uma enzima cuja função é criar um ambiente favorável para a realização das reações apresentadas anteriormente. Na verdade, podemos comparar a molécula da enzima a uma casa com quatro cômodos, sendo um específico para o ATP, um segundo específico para um dos vinte aminoácidos, um terceiro específico para o tRNA correspondente ao aminoácido e um quarto específico para uma molécula de água, que é utilizada em hidrólise. Portanto, existe pelo menos uma aminoacil-tRNA sintetase para cada aminoácido. De fato, a tradução correta da mensagem genética depende do alto grau de especificidade dessas enzimas. Elas são altamente seletivas no reconhecimento do aminoácido a ser ativado, bem como no reconhecimento do respectivo tRNA. Essa seletividade é possível

graças às diferentes sequências encontradas em cada tipo de tRNA, como já foi mencionado anteriormente (Box 3.9).

Entre esses tRNAs, existem dois específicos para o aminoácido metionina. Um é utilizado apenas para iniciar a tradução - tRNA<sub>f</sub> - e o outro é responsável para inserir a metionina em outras posições da cadeia polipeptídica. No entanto, ambos reconhecem o mesmo códon no mRNA, o 5' AUG 3'.

A tradução é mais facilmente compreendida se ela for dividida em três etapas sucessivas, isto é, o **início**, a **elongação** e o **término** da cadeia polipeptídica. Essas três etapas são similares em procariotos e eucariotos, embora existam também algumas diferenças especialmente no início da tradução.

Nos procariotos, o início da tradução ocorre quando a extremidade 5' da molécula de mRNA se combina com a subunidade menor - 30 S - do ribossomo e com a formil-metionina - tRNA<sub>f</sub> (Figura 3.14 e Box 3.10). A ligação da formil-metionina-tRNA<sub>f</sub> ao complexo se dá por meio de pontes de hidrogênio entre as bases do mRNA - códon de iniciação 5' AUG 3' - e as bases complementares do tRNA<sub>f</sub> - anticódon 5' CAU 3'. Em razão do códon de iniciação não estar situado na extremidade 5' do mRNA, podemos perguntar como o anticódon da formil-metionina-tRNA<sub>f</sub> encontra o códon 5' AUG 3'? Foi constatado que existe uma sequência no mRNA, antes do 5' AUG 3', que é complementar à extremidade 3' do rRNA 16 S, que é um constituinte da subunidade menor do ribossomo - 30S. Portanto, ocorre o pareamento dessas duas sequências complementares e, em consequência, o códon 5' AUG 3' fica posicionado na subunidade 30 S, facilitando o seu pareamento com o anticódon do tRNA<sub>f</sub> carregado com a formil-metionina. Em seguida, a subunidade maior do ribossomo - 50 S - se liga ao complexo para formar o ribossomo completo, também denominado **complexo de iniciação**.



**FIGURA 3.14.** Esquema do início da síntese de uma cadeia polipeptídica, o complexo de iniciação. Note que os dois sítios onde entram os aminoácidos, o P (formil-Met) e o A (demais aminoácidos) ocorrem entre as duas subunidades do ribossomo. Portanto, existe uma fenda entre as duas subunidades, onde localiza-se o mRNA e por onde entram os tRNAs, processando a síntese da cadeia polipeptídica.

**BOX 3.9. OS VINTE AMINOÁCIDOS E AMINOACIL-tRNA SINTETASES QUE SÃO UTILIZADOS NA TRADUÇÃO**

Aminoácido	Abreviaturas		aminoacil-tRNA sintetase
	3 letras	1 letra	
<i>Ácido aspártico</i>	<i>Asp</i>	<i>D</i>	$\alpha_2$
<i>Ácido glutâmico</i>	<i>Glu</i>	<i>E</i>	$\alpha$
<i>Alanina</i>	<i>Ala</i>	<i>A</i>	$\alpha_4$
<i>Arginina</i>	<i>Arg</i>	<i>R</i>	$\alpha$
<i>Asparagina</i>	<i>Asn</i>	<i>N</i>	$\alpha_2$
<i>Cisteína</i>	<i>Cys</i>	<i>C</i>	$\alpha$
<i>Fenilalanina</i>	<i>Phe</i>	<i>F</i>	$\alpha_2\beta_2$
<i>Glicina</i>	<i>Gly</i>	<i>G</i>	$\alpha_2\beta_2$
<i>Glutamina</i>	<i>Gln</i>	<i>Q</i>	$\alpha$
<i>Histidina</i>	<i>His</i>	<i>H</i>	$\alpha_2$
<i>Isoleucina</i>	<i>Ile</i>	<i>I</i>	$\alpha$
<i>Leucina</i>	<i>Leu</i>	<i>L</i>	$\alpha$
<i>Lisina</i>	<i>Lys</i>	<i>K</i>	$\alpha_2$
<i>Metionina</i>	<i>Met</i>	<i>M</i>	$\alpha$
<i>Prolina</i>	<i>Pro</i>	<i>P</i>	$\alpha_2$
<i>Serina</i>	<i>Ser</i>	<i>S</i>	$\alpha_2$
<i>Tirosina</i>	<i>Tyr</i>	<i>Y</i>	$\alpha_2$
<i>Treonina</i>	<i>Thr</i>	<i>T</i>	$\alpha_2$
<i>Triptofano</i>	<i>Trp</i>	<i>W</i>	$\alpha_2$
<i>Valina</i>	<i>Val</i>	<i>V</i>	$\alpha$

Cada aminoácido é representado pela abreviatura de seu nome na língua inglesa, de três letras ou uma letra, definidos em convenção internacional. A maioria das abreviaturas corresponde às três ou a primeira letra do seu nome.

Cada aminoácido é reconhecido por uma aminoacil-tRNA sintetase específica. Cada enzima pode ter apenas uma cadeia polipeptídica ( $\alpha$ ), duas idênticas ( $\alpha_2$ ), quatro idênticas ( $\alpha_4$ ), ou quatro de dois tipos ( $\alpha_2\beta_2$ ). A cadeia a ou b é específica de cada enzima. As aminoacil-tRNA sintetases são classificadas em dois grupos. O grupo I são aquelas principalmente monoméricas e que reconhecem os 10 aminoácidos escritos com letra normal e o grupo II são enzimas principalmente diméricas e reconhece os 10 aminoácidos escritos com letra em *itálico*.

No geral, a aminoacil-tRNA sintetase reconhece o seu aminoácido pela curvatura interna do tRNA na sua estrutura terciária e em algum ponto próximo ou no anticódon. Entretanto, aquelas do grupo I também o reconhece pelo braço do aminoácido na conformação de um grampo, contatando o tRNA no sulco menor da hélice dupla. Já, aquelas do grupo II fazem o contato no braço do aminoácido na conformação em hélice, por meio do sulco maior. Após o reconhecimento do tRNA, as enzimas do grupo I ligam o aminoácido na posição 2' da ribose da adenosina situada em 3' do tRNA, enquanto as enzimas do grupo II o liga na posição 3', exceto a enzima da Phe.

### **BOX 3.10. O RIBOSSOMO E ALGUMAS ENZIMAS ENVOLVIDAS NA TRADUÇÃO DE PROCARIOTO E EUCARIOTO**

No procarioto o ribossomo (70S) é uma estrutura ribonucleoprotéica e é constituído de duas subunidades, uma menor (30S) e outra maior (50S). A subunidade 30S contém uma molécula de rRNA (16S com 1542 bases) associada a 21 moléculas de proteínas (S1 a S21). A subunidade 50S contém duas moléculas de rRNA, uma 23S com 2904 bases e outra 5S com 120 bases, associadas a 34 moléculas diferentes de proteínas (L1 a L34).

O ribossomo do eucarioto (80S) é semelhante ao do procarioto, porém, ligeiramente maior, sendo constituído da subunidade menor (40S) e outra maior (60S). A 40S é constituída pelo rRNA 18S com 1874 bases e 33 proteínas, enquanto a subunidade 60S possui três rRNAs, o 28S com 4718 bases, o 5,8S com 160 bases e o 5S com 120 bases, todos associados a 49 proteínas.

Essas duas subunidades só ocorrem juntas quando está ocorrendo a tradução e, no ribossomo, ocorrem várias reações enzimáticas envolvendo os próprios rRNAs e também as proteínas ribossômicas, em vários locais, com destaque para três sítios: o **P** onde entra o primeiro tRNA carregado com a metionina (metionil-tRNA<sub>f</sub>), o **A** onde entra os demais tRNAs carregados (aminoacil-tRNAs) e o **E** onde o tRNA descarregado do aminoácido será liberado do ribossomo.

Nos procariotos participam três enzimas no início da tradução, os fatores de iniciação (IF1, IF2 e IF3). O IF1 e IF3 inicialmente ficam unidos à subunidade 30S para impedir que ela se ligue à 50S na ausência do mRNA. O IF2, após unido ao GTP, liga-se especificamente à formil-Met-tRNA<sub>f</sub> para introduzi-lo no sítio P na subunidade 30S.

Com essa ligação, a hidrólise do GTP a GDP e a liberação dos três fatores de iniciação, permitem a ligação da subunidade maior (50S) e a formação do complexo de iniciação.

A partir do complexo de iniciação começa a elongação também com a participação de três enzimas, os fatores de elongação (EF-Tu, EF-Ts e G). A função da EF-Tu é semelhante ao do IF-2, juntamente com o GTP introduz cada aminoacil-tRNA somente no sítio A. Após o EF-Tu-GDP é liberado e o EF-Ts liga-se nesse complexo para descarregar o GDP. Outro GTP liga-se no EF-Tu, libera o EF-Ts e promove a introdução de novo aminoacil-tRNA no sítio A.

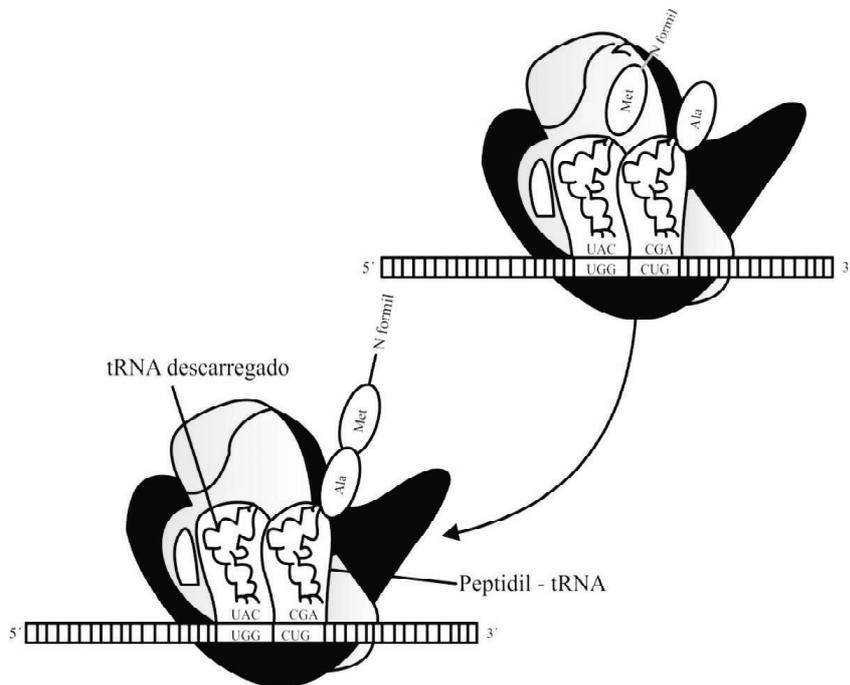
Assim que ocorre a ligação peptídica entre os dois aminoácidos que estão nos sítios A e P, o mRNA juntamente com esses dois tRNAs são translocados com a participação do fator de elongação G consumindo um GTP, isto é, o aminoacil-tRNA do sítio A vai para o sítio P e o tRNA do sítio P vai para o sítio E, liberando-o para transportar outro aminoácido. Note que o sítio A fica vago para receber um próximo aminoacil-tRNA.

Nos eucariotos participam um número maior de enzimas. Entre as mais conhecidas, na iniciação participam o eIF2 e eIF2B, que são equivalentes, respectivamente, IF2 e EF-Ts de procarioto. Inicialmente, forma-se o complexo ternário eIF2-GTP-Met-tRNA<sub>i</sub>. O eIF3 liga-se à subunidade menor do ribossomo (40S) e o eIF6 liga-se à subunidade maior (60S), para mantê-las separadas. Simultaneamente, o eIF3 também auxilia o complexo ternário ligar-se no capacete-eIF4E-eIF4G-eIF4F, seguido do eIF4A que desenrola o mRNA, auxiliado pela eIF4B. Esse complexo escaneia o mRNA até encontrar o AUG. O eIF5 utiliza o GTP para liberar eIF2, eIF3, eIF6, e provavelmente, os demais eIFs, para permitir a união da 60S, formando o complexo de iniciação, que estabiliza o início da tradução. A elongação e o término da tradução no eucarioto são similares ao procarioto.

Nesse estágio, a formil-metionina-tRNA<sub>f</sub> ocupa o sítio P - **sítio do peptídeo** - do ribossomo, enquanto o sítio A - **sítio do aminoácido** -, está vazio. A associação desses elementos é mediada por enzimas chamadas de **fatores de iniciação**, além do consumo de energia fornecida pelo GTP.

A elongação da cadeia polipeptídica ocorre a partir do complexo de iniciação. A leitura prossegue na direção 5'→3' do mRNA pela entrada de um segundo aminoacil-tRNA no sítio A do ribossomo (Figura 3.15). Esse segundo aminoacil-tRNA a ser inserido depende do códon no mRNA que se encontra no sítio A. Estando os sítios P e A devidamente ocupados, os dois primeiros aminoácidos já estão estrategicamente próximos para serem unidos por meio de uma **ligação peptídica**. Essa ligação se dá entre o grupo carboxílico do primeiro

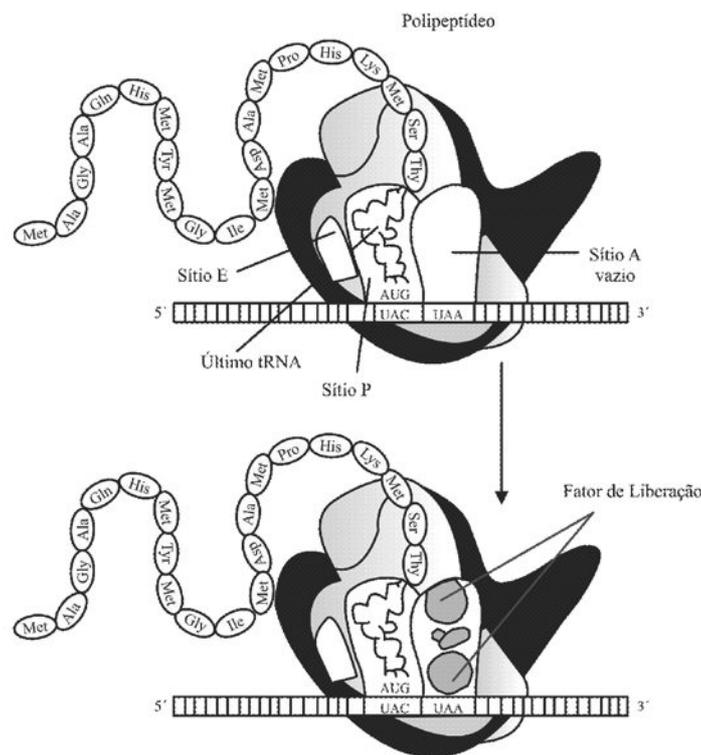
aminoácido e o grupo amínico do segundo. A ligação peptídica é catalizada pela **peptidil transferase**, uma enzima que é parte integrante da subunidade maior do ribossomo. É importante mencionar que os dois aminoácidos, dos sítios P e A, estão posicionados exatamente sobre o sítio da peptidil transferase, na subunidade 50 S, facilitando, assim, a ocorrência da ligação peptídica. Em consequência dessa ligação, forma-se um dipeptídeo no sítio A e o tRNA<sub>f</sub> do sítio P desliga-se da formil-metionina. Após essa ligação, ocorre a **translocação**, que consta basicamente de três movimentos; o mRNA move-se através do ribossomo em uma extensão de três nucleotídeos - um códon, o dipeptídeo-tRNA move-se do sítio A para o sítio P e o tRNA descarregado do sítio P é transferido para o sítio E do ribossomo, sendo em seguida liberado. O resultado da translocação é o terceiro códon do mRNA que fica posicionado no sítio A, pronto para receber o terceiro aminoacil-tRNA. Esse processo repete-se até o final da cadeia polipeptídica e, em cada passo, estão também envolvidas várias enzimas, os **fatores de alongação**, e o GTP. Devemos observar que apenas o tRNA<sub>f</sub> entra no sítio P, todos os outros entram no sítio A.



**FIGURA 3.15.** Esquema de elongação da cadeia polipeptídica. Observe que um segundo tRNA, transportando o aminoácido Ala, entra no sítio A que estava vago. Em seguida, ocorre a ligação peptídica da Ala com Met, formando um dipeptídeo ligado momentaneamente no sítio A. Após o movimento do mRNA através do ribossomo, em um espaço equivalente a um códon, o dipeptídeo passa do sítio A para o sítio P e o tRNA<sub>f</sub> passa para o sítio E para ser liberado. Um novo sítio A se torna vago para a entrada de um terceiro tRNA carregado com aminoácido. Esse processo repete-se até que o sítio A atinja um ponto final.

O término da tradução ocorre quando no sítio A se encontra um dos três códons 5' UAA 3', ou 5' UAG 3', ou 5' UGA 3' (Figura 3.16). Para esses três códons, não existe tRNAs com anticódons complementares, mas sim proteínas específicas que os reconhecem como sinais de parada. Essas proteínas chamadas de **fatores de liberação** se ligam a um dos códons de terminação no sítio A e ativam a peptidil transferase, que realiza a hidrólise da ligação entre o polipeptídeo e o tRNA no sítio P. Após a hidrólise, a cadeia polipeptídica completa se dissocia do tRNA, a molécula de mRNA se liberta dos ribossomos e estes, por sua vez, se dissociam nas duas subunidades.

A tradução nos eucariotos difere daquela nos procariotos em alguns pontos. Entre eles, o ribossomo eucarioto possui as duas subunidades ligeiramente maiores, sendo a menor 40 S e a maior 60 S. O tRNA que inicia a tradução - tRNA<sub>i</sub> - também é especial, isto é, só serve para começar a tradução e também carrega a metionina, embora esta não seja formilada. No mRNA eucarioto, a sequência que precede o códon 5' AUG 3', não é complementar à extremidade 3' do rRNA da subunidade 40 S. Além disso, o mRNA possui o capacete na



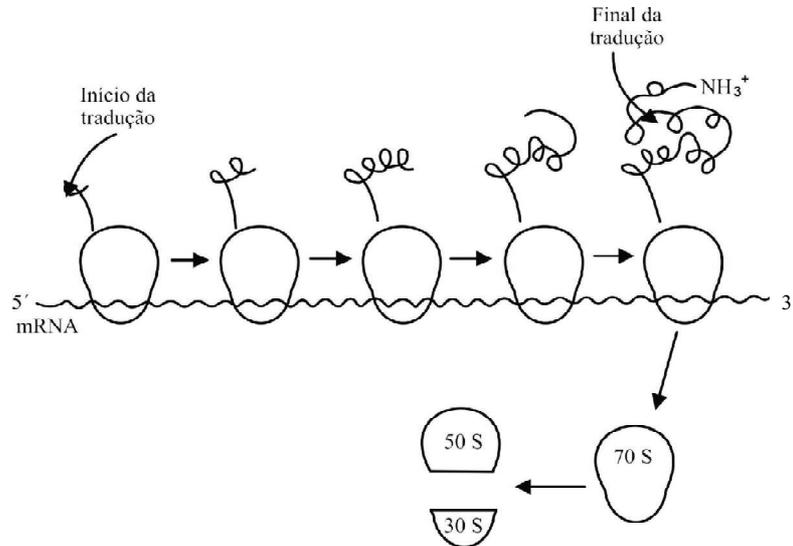
**FIGURA 3.16.** Esquema do término da síntese de uma cadeia polipeptídica. Note que o sítio A, à direita do ribossomo, ficou vago e contém o ponto final 5' UAA 3'. Como este códon tem afinidade pelos fatores de liberação, as proteínas RF1 e RF3, ocorre a hidrólise de todo o conjunto, com o auxílio de energia fornecida pelo GTP. Em consequência, será liberada a cadeia polipeptídica já completa que está presa no último tRNA, no sítio P.

extremidade 5', que se une à subunidade 40 S do ribossomo. Essa subunidade também já está previamente associada à metionina - tRNA<sub>i</sub>. Portanto, a ligação do tRNA<sub>i</sub> com o mRNA não se faz inicialmente por meio do pareamento códon-anticódon e sim, por meio do caminhar da subunidade 40 S sobre o mRNA no sentido 5'→3', até encontrar o primeiro 5' AUG 3' que se pareia com o anticódon. Em seguida, une-se à subunidade maior do ribossomo - 60 S - formando o **complexo de iniciação**. Em todos os passos, participam enzimas, fatores de iniciação e há consumo de energia proveniente de ATP e GTP.

Nos eucariotos, as proteínas que são secretadas geralmente são sintetizadas nos ribossomos associados ao retículo endoplasmático, o qual é denominado de rugoso pela presença do ribossomo. A aparente ligação do ribossomo ao retículo se dá por meio de uma complexa estrutura ribonucleoprotéica denominada de partícula de reconhecimento do sinal (SRP). A SRP é constituída por um scRNA com 305 bases associadas a seis moléculas de proteína. A função da SRP é ligar-se a uma sequência de 15-30 aminoácidos (peptídeo sinal) da extremidade amino terminal da cadeia polipeptídica, que está sendo sintetizada pelo ribossomo. Simultaneamente, a SRP liga-se a uma proteína receptora de SRP situada no retículo, formando-se um poro na sua membrana e direcionando a cadeia polipeptídica sob síntese para o interior do retículo. Após a cadeia polipeptídica estar no interior do retículo o peptídeo sinal é eliminado por uma enzima, formando-se assim a proteína madura. Essa proteína é, em seguida, direcionada para o complexo de Golgi de onde emergem vesícula com a proteína, encaminhando-a para a membrana plasmática e liberando-a para o exterior da célula.

Várias cadeias polipeptídicas são sintetizadas no citossol e, posteriormente, elas são destinadas ao interior de organelas como a mitocôndria ou o cloroplasto. Essas cadeias conseguem atingir seu destino também graças a um peptídeo sinal, o qual às vezes é duplo, pois necessitam cruzar as duas unidades de membrana dessas organelas. Um fato curioso foi a obtenção da soja transgênica resistente ao glifosato pela empresa Monsanto. No preparo do gene que codifica a proteína que confere resistência a esse herbicida, foi necessário adicionar o peptídeo sinal para assegurar que a proteína sintetizada no citossol chegasse no interior do cloroplasto onde o glifosato atua.

É importante enfatizar que muitos ribossomos podem traduzir simultaneamente uma única molécula de mRNA, aumentando grandemente a eficiência de utilização do mRNA. Um grupo de ribossomos ligados a uma molécula de mRNA é chamado **polirribossomos** ou **polissomos**. Cada ribossomo desse grupo funciona independentemente, sintetizando uma molécula completa da cadeia polipeptídica. Assim, se temos um polissomo constituído de cinco ribossomos, teremos cinco moléculas daquela proteína (Figura 3.17; Box 3.11)



**FIGURA 3.17.** Diagrama de um polirribossomo (polissomo). O mRNA move-se através dos ribossomos na direção 5' → 3' até encontrar um dos códons de terminação. O funcionamento de cada ribossomo é independente, isto é, cada ribossomo produz uma molécula da cadeia polipeptídica.

### BOX 3.11. INIBIDORES DA SÍNTESE PROTÉICA

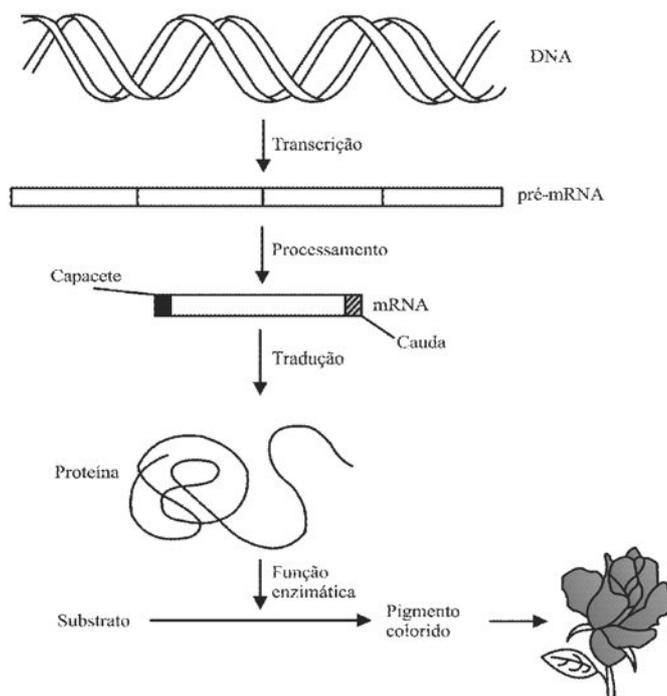
Um aspecto importante de se conhecer a síntese de proteínas é o sucesso que se tem hoje com o controle de infecções bacterianas por meio de antibióticos. Isso porque o mecanismo de ação de vários antibióticos é exatamente no processo de tradução de proteínas das bactérias, embora não afete o processo de tradução do eucarioto. Por outro lado, algumas toxinas letais a eucarioto atuam no seu sistema de tradução.

Antibiótico/toxina	Ação	Organismo
1. <i>Estreptomicina e outros aminoglicosídeos</i>	<i>Inibe a iniciação da tradução</i>	<i>Procariotos</i>
2. <i>Tetraciclina</i>	<i>Inibe a ligação de aminoacil-tRNAs</i>	<i>Procariotos</i>
3. <i>Cloranfenicol</i>	<i>Inibe a atividade da peptidil transferase</i>	<i>Procariotos</i>
4. <i>Cicloeximida</i>	<i>Inibe a atividade da peptidil transferase</i>	<i>Eucariotos</i>
5. <i>Eritromicina</i>	<i>Liga-se na subunidade 50S e inibe a translocação</i>	<i>Procariotos</i>
6. <i>Puromicina</i>	<i>Entra no lugar de aminoacil-tRNA e causa término pré-maturo da tradução</i>	<i>Procariotos e Eucariotos</i>
7. <i>Proteína da difteria</i>	<i>Bloqueia a translocação durante a tradução inativando o fator de alongação eEF2</i>	<i>Eucariotos</i>

### 3.5 MANIFESTAÇÃO FENOTÍPICA

Vimos até agora como a informação codificada no DNA é passada de célula para célula por intermédio da replicação e, também que o processo da tradução resulta na síntese de uma cadeia polipeptídica. Nesse tópico, procuraremos demonstrar de uma forma bem simplificada como um gene controla um determinado fenótipo. Na verdade, este controle é indireto, porque na maioria das vezes o produto final da transcrição e tradução, isto é, a cadeia polipeptídica, não é expressa prontamente. Por exemplo, um gene que controla a cor da flor em uma espécie vegetal não é o responsável direto pela síntese dos pigmentos coloridos (Figura 3.18). Em vez disso, esses pigmentos são produtos de uma via metabólica cujas reações são catalisadas por enzimas, as quais são sintetizadas graças às informações contidas no DNA, como visto anteriormente.

Por outro lado, existem situações em que a cadeia polipeptídica tem função estrutural e, nesse caso, a expressão fenotípica é produto direto da informação proveniente do DNA. Por exemplo, o colágeno é uma proteína fibrosa presente na pele, ossos, cartilagens e dentes de todos os mamíferos. Portanto, o aspecto fenotípico desses tecidos animais é controlado diretamente pelo DNA.



**FIGURA. 3.18.** Esquema da expressão do gene para a cor da flor. Observe que o gene (DNA) é transcrito em um pré-mRNA que é processado para produzir o mRNA. A cadeia polipeptídica é produzida a partir da tradução do mRNA. A proteína sintetizada atua como enzima na conversão do substrato em pigmentos coloridos. Apesar desse gene estar presente em todas as células da planta, ele só se manifesta nas pétalas da flor.

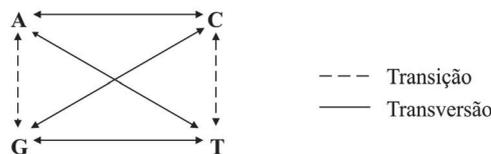
Assim sendo, certos caracteres tais como produção de grãos, produção de leite, teor de vitaminas em frutos etc., são bastante complexos e resultam geralmente da participação de centenas de genes. No entanto, mesmo que não se conheça completamente o controle desses caracteres, podemos inferir que o fenótipo final surge de maneira análoga àquela descrita para a cor da flor, havendo, porém, centenas de passos metabólicos e talvez a interação dos vários produtos formados.

### 3.6 ORIGEM DA VARIABILIDADE GENÉTICA

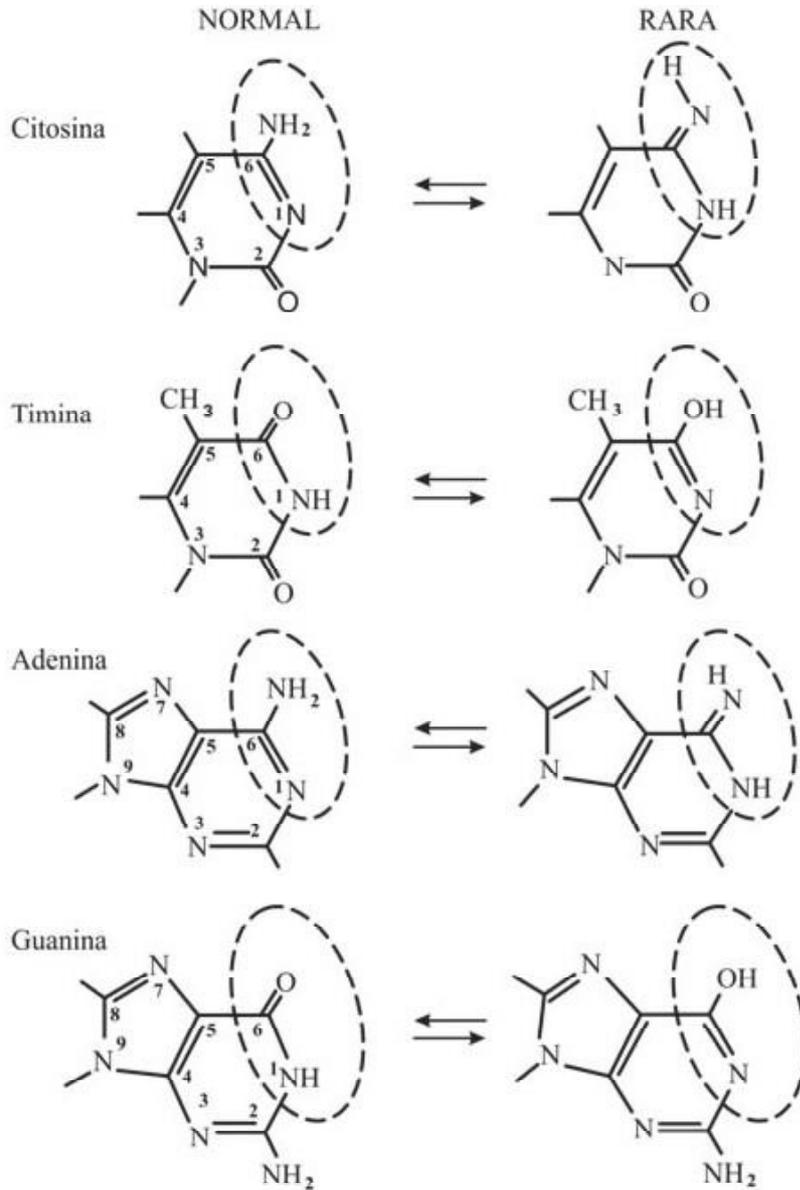
A origem da variabilidade genética são as mutações e correspondem a mudanças herdáveis que servem como matéria-prima aos processos de melhoramento genético e evolução. Como as mutações são herdáveis, elas devem ocorrer na sequência de nucleotídeos do gene, provocando alterações do mesmo e, conseqüentemente, produzindo novas formas alternativas, os **alelos**.

Existem várias causas que podem provocar uma mutação gênica, mas que apresentam sempre uma característica em comum: todas elas afetam a sequência de bases nitrogenadas do DNA. Essa alteração gera um novo alelo e pode modificar a cadeia polipeptídica a ser sintetizada, dando origem na maioria das vezes, a um novo fenótipo. As causas que podem provocar alterações nas sequências de bases do DNA são:

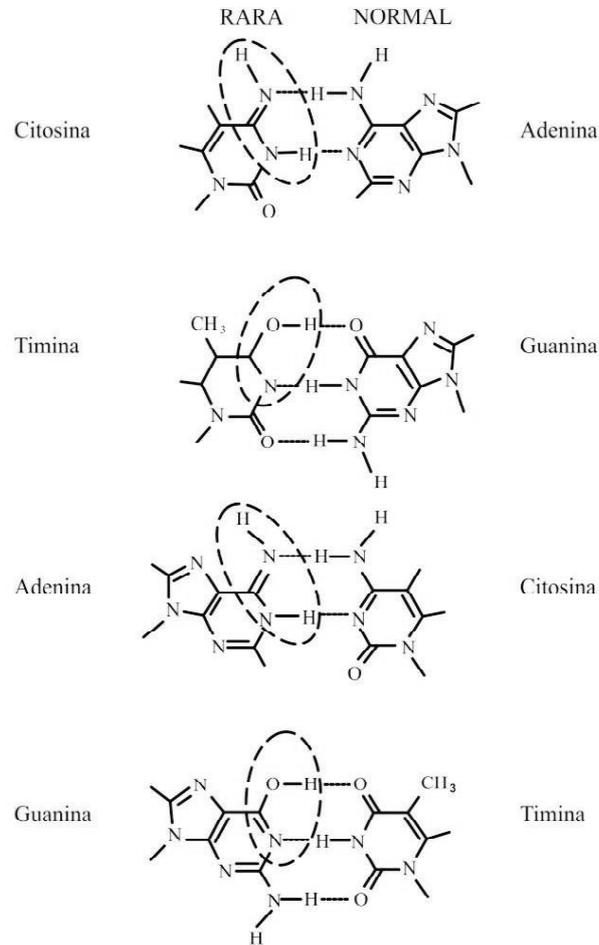
- Substituição de bases - Podem ocorrer vários tipos de trocas, as quais recebem denominações especiais. Assim, a troca de uma purina - adenina ou guanina - por outra, ou de uma pirimidina - citosina ou timina - por outra, é denominada de transição; contudo, a substituição de uma purina por uma pirimidina, ou vice-versa, é denominada de transversão. Quatro diferentes transições e oito diferentes transversões são possíveis, como pode ser observado no esquema apresentado a seguir:



A troca de bases ocorre porque existem formas **tautoméricas** (Figura 3.19), isto é, formas alternativas das bases nitrogenadas e que, frequentemente, apresentam pareamento irregular durante a replicação do DNA. Por exemplo, adenina no seu estado normal **amino** forma pontes de hidrogênio com a timina, mas na forma tautomérica **imino** pode se parear com a citosina. Da mesma maneira, timina, no estado ceto, se parecia com a adenina, mas na forma tautomérica **enólica** é capaz de se parear com a guanina (Figura 3.20). As formas tautoméricas raramente estão presentes nas células, mas podem se tornar comuns, graças à ação de agentes mutagênicos naturais ou artificiais.



**FIGURA 3.19.** Bases do DNA e suas respectivas formas tautoméricas raras que explicam as mutações gênicas advindas de substituição de bases. É mostrado o local na molécula em que ocorrem as alterações tautoméricas. Essas alterações correspondem à mudança de posição do átomo de H. Em consequência, o grupo amino (NH<sub>2</sub>) perde um H e origina o tautômero imino (NH). De forma semelhante, o grupo enol (COH) também perde um H e origina o tautômero ceto (CO).



**FIGURA 3.20.** Diagrama dos pareamentos dos tautômeros, durante a replicação do DNA. Observe que as formas tautoméricas possibilitam o pareamento anormal, o que contribui para a substituição de bases, que é uma das causas de mutação.

A substituição de bases causa alteração em um único códon no DNA. O códon mutante pode ou não provocar mudança de um aminoácido ao longo da cadeia polipeptídica, possibilitando três alternativas:

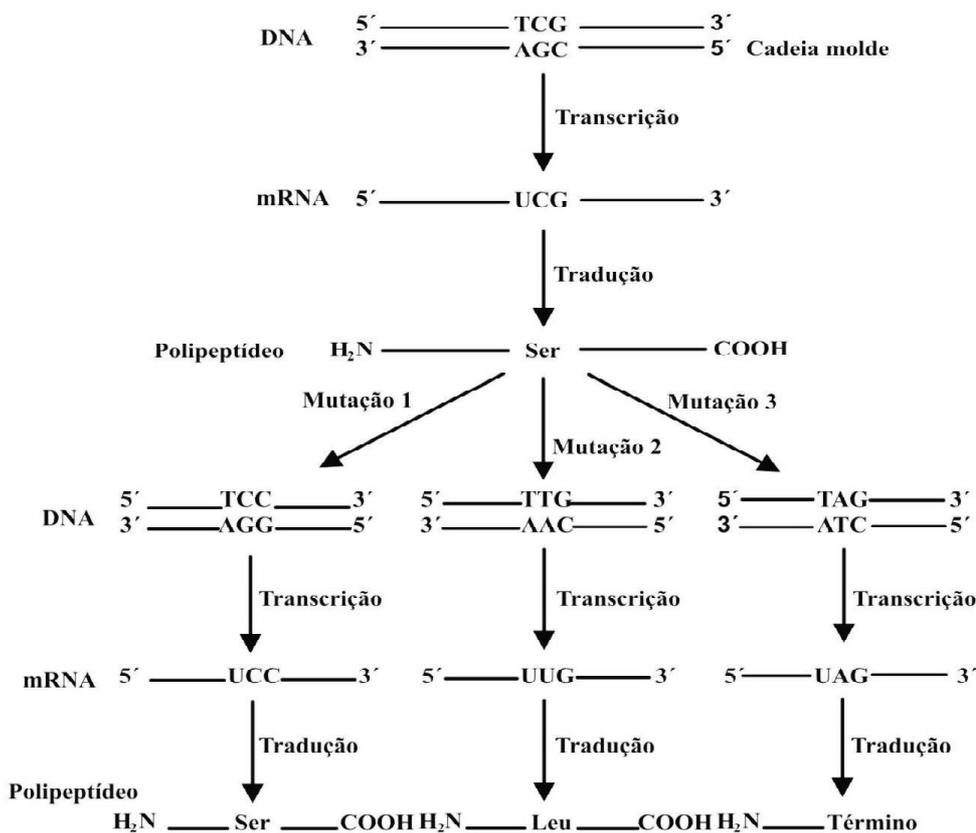
- **Mutação silenciosa** - Nesse caso, a substituição de bases no DNA não altera a sequência de aminoácidos na cadeia polipeptídica. Por exemplo, seja 3' AGC 5' a sequência de bases da cadeia molde de um segmento de DNA, e o aminoácido codificado por esse segmento é a serina. Se a citosina no códon anterior for substituída por uma guanina, o códon mutante será 3' AGG 5', o qual também codifica o aminoácido serina. Portanto, a ocorrência de uma mutação no DNA não traz nenhuma consequência à cadeia polipeptídica, graças à degenerescência do código genético. Um efeito similar ao da mutação silenciosa é produzido quando a substituição de base no DNA ocasiona a substituição de um aminoácido

na cadeia polipeptídica sem, no entanto, acarretar nenhuma alteração na sua função. Esse último caso é chamado de mutação neutra.

• **Mutação de sentido errado** - Quando a substituição de uma base no DNA acarreta alteração em um aminoácido na cadeia polipeptídica, temos uma mutação de sentido errado. Por exemplo, considerando que no códon anterior 3' AGC 5' a guanina seja trocada por adenina, teremos 3' AAC 5' que, por sua vez, codifica o aminoácido leucina. Em geral, essa mutação resulta na produção de uma proteína com propriedades diferentes, ocasionando a formação de um novo fenótipo.

• **Mutação sem sentido** - Tem-se esse tipo de mutação, quando de uma troca de bases no DNA surge um dos códons de terminação no mRNA, impedindo a síntese completa da cadeia polipeptídica. Assim, se a guanina for substituída pela timina no códon 3' AGC 5', teremos 3' ATC 5', que será transcrito em 5' UAG 3' no mRNA, o qual é um códon de terminação.

Na Figura 3.21 apresentam-se esses três tipos de mutações.



**FIGURA 3.21.** Esquema de possíveis substituições de bases em um segmento de DNA. Observe que a substituição de bases pode contribuir para uma mutação que não altera a cadeia polipeptídica (mutação silenciosa Ser → Ser), uma mutação de sentido errado, por substituir um aminoácido na cadeia polipeptídica (Ser → Leu) e uma mutação sem sentido, em razão de ocorrência de um ponto final (UUG → UAG).

• **Adição ou deleção de bases** - A retirada ou a inclusão de uma única base provoca alterações na sequência de DNA a partir do ponto em que ocorreu a deleção ou adição. Seja, por exemplo, uma molécula de DNA com a seguinte sequência de bases:

5' ATGCCGACGTATCAGTAA 3' - cadeia senso

3' TACGGCTGCATAGTCATT 5' - cadeia molde ou antissenso

O RNA mensageiro transcrito terá a seguinte sequência de bases:

5' AUGCCGACGUAUCAGUAA 3'

Essa sequência de bases, por sua vez, codifica uma cadeia polipeptídica com os seguintes aminoácidos: metionina - prolina - treonina - tirosina - glutamina. Se, por exemplo, for adicionado erradamente durante a replicação do DNA, o par A-T, entre o quinto e sexto pares de bases, a nova molécula do DNA terá a seguinte sequência:

5' ATGCCAGACGTATCAGTAA 3'

3' TACGGTCTGCATAGTCATT 5'

O mRNA será: 5' AUGCCAGACGUAUCAGUAA 3' e a sequência de aminoácidos deverá ser: metionina - prolina - ácido aspártico - valina - serina - valina. Como se observa, a adição de apenas uma base modifica completamente a sequência de aminoácidos na cadeia polipeptídica sintetizada, a partir do ponto em que ocorre a adição da base nitrogenada no DNA. Além disso, desapareceu o ponto final, produzindo, assim, uma cadeia polipeptídica que certamente não será funcional.

Pelo exemplo demonstrado, fica evidenciado que a mutação do tipo adição ou deleção é bem mais drástica do que a substituição de bases. De fato, esse tipo de mutação pode ser letal se a proteína original for essencial para a sobrevivência do indivíduo, não sendo assim passada aos descendentes. Quando o alelo mutante não é letal, geralmente forma alelo não funcional que é denominado de recessivo.

Deve ser enfatizado que, como um gene é constituído por centenas de nucleotídeos, teoricamente, o número de alelos para um dado gene é muito grande. Isso ocorre porque a probabilidade de que uma dada mutação reverta ao estado alélico anterior é muito menor do que a probabilidade de uma mutação adicional para um novo estado alélico. É necessário comentar que, apesar do grande número de nucleotídeos que constitui um gene, a frequência de mutação é muito baixa por ser o processo de replicação do DNA muito preciso. Ela corresponde, em geral, a valores entre  $10^{-5}$  a  $10^{-6}$  por loco por geração, em bactérias. Em eucariotos, embora não existam estimativas precisas, imagina-se que as frequências sejam semelhantes. Apesar dessas baixas frequências, o número de mutantes na espécie é função

do número de indivíduos. Em populações muito grandes como, por exemplo, em uma colônia de bactéria, sempre ocorrem mutantes em um ou mais genes. De forma semelhante, em uma cultura de milho, por exemplo, é frequente encontrarmos plantas albinas, como resultado de mutação sem sentido no gene da clorofila. A frequência de mutação, porém, pode ser incrementada utilizando agentes mutagênicos que podem ser substâncias químicas ou agentes físicos.

Em função da região do corpo do indivíduo em que uma célula sofre uma mutação, ela é denominada de **somática**, se ocorrer em qualquer célula, de modo que não seja herdada. Entretanto, se a célula somática mutante originar um tecido reprodutivo e o alelo mutante for passado para um gameta, ele será herdável. Igualmente, se a mutação ocorrer nas células da linha germinativa ou no próprio gameta, sendo, portanto, herdável, é chamada de mutação **germinal** ou **gamética**.

### 3.7 GENES, ALELOS E DNA

Uma pergunta frequentemente formulada é se todo o DNA de um organismo constitui os seus genes. Se compararmos as quantidades de DNA de diferentes organismos, notamos que sua variação é muito grande. O excesso de DNA por genoma ocorre, principalmente, nos organismos superiores. O milho, por exemplo, possui cerca de 1500 vezes a quantidade de DNA da bactéria *Escherichia coli*. A bactéria, apesar de ser um procarioto, é um ser autônomo e, portanto, possui todos os genes necessários para a sua sobrevivência. Assim, é errôneo afirmar que o milho possui 1500 vezes mais genes do que a *E. coli*, na realidade é apenas cerca de oito vezes (Tabela 3.4). De fato, estudos realizados com DNA de eucariotos, procariotos e vírus mostraram que o DNA de vírus e de procariotos faz parte quase somente de seus genes. No entanto, os eucariotos possuem três classes de DNA: 1. Os altamente repetitivos, que são sequências pequenas, de comprimentos entre 6 e 300 pares de bases e, cada sequência é repetida até um milhão de vezes por genoma; 2. Os moderadamente repetitivos, em que cada segmento ocorrem repetidos entre mil e dez mil vezes; 3. E os não repetitivos.

O DNA altamente repetitivo concentra-se principalmente próximo do centrômero, e acredita-se que sua função esteja relacionada com o alinhamento dos cromossomos durante as divisões celulares. Portanto, não são genes. Entretanto, pequenas sequências de DNA altamente repetitivo ocorrem ao longo de todo o genoma e até mesmo dentro de muitos genes, nas regiões não traduzidas do primeiro e último éxon. O moderadamente repetitivo constitui alguns poucos genes que se encontram repetidos, como os de rRNA e de histonas, e também devem corresponder às inúmeras sequências que participam da regulação da expressão dos genes, as quais também não são genes e sim sítios regulatórios (capítulo 19). Já, o DNA não repetitivo representa a grande maioria dos genes.

**TABELA 3.4.** Número de genes de algumas espécies.

<b>Espécie</b>	<b>Número de genes (* estimado)</b>
<i>Mycoplasma genitalium</i>	470
<i>Rickettsia prowazekii</i>	834
<i>Haemophilus influenzae</i>	1.743
<i>Escherichia coli</i>	4.288
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	6.034
<i>Drosophila melanogaster</i>	12.000*
<i>C. elegans</i>	19.000*
<i>Arabidopsis thaliana</i>	25.000*
<i>Homo sapiens</i>	35.000*
<i>Oryza sativa</i>	40.000*
<i>Zea mays</i>	32.000*

Outro ponto também a ser comentado é questionar a diferença entre gene e alelo sob o ponto de vista molecular. Em geral, pode-se dizer que os genes possuem números muito diferentes de pares de nucleotídeos, uma vez que correspondem a segmentos diferentes do DNA - situados em locos diferentes do cromossomo. Além disso, os eucariotos em geral, possuem números diferentes de éxons e íntrons, variando de um a cinquenta. Portanto, a diferença entre os genes se deve basicamente às diferenças de tamanho da cadeia polipeptídica codificada por cada um e que correspondem aos éxons, e também a variação do número de éxons e íntrons. Já, os alelos, por corresponderem a segmentos homólogos de DNA - possuem o mesmo número de pares de nucleotídeos, quando são provenientes de mutação por substituição de bases, ou possuem números semelhantes de pares de nucleotídeos, quando forem originados por mutação do tipo adição ou deleção de bases. Em geral, os alelos diferentes possuem o mesmo número de éxons e íntrons.

### PROBLEMAS PROPOSTOS

1. A composição de bases de vários ácidos nucleicos isolados de algumas espécies é fornecida a seguir:

Espécies	Bases (%)				
	A	C	G	T	U
1	20	30	30	20	-
2	40	10	10	40	-
3	30	30	20	-	20
4	40	10	40	-	10
5	30	30	20	20	-

Para cada espécie, caracterize o ácido nucleico encontrado.

2. O DNA de uma célula haplóide da galinha contém  $1,3 \times 10^{12}$ g e a adenina corresponde a 28% de suas bases. a) Qual é a proporção de citosina esperada nesse DNA? b) Qual o número esperado de nucleotídeos em uma célula somática? c) Qual seria o comprimento total do DNA de uma célula haplóide, se todos os seus cromossomos fossem unidos? d) Considerando que o núcleo de uma célula tem 3 mm de diâmetro, qual a implicação biológica dessa dimensão em relação ao comprimento do DNA? **Observação:** Considere que o peso molecular médio de um nucleotídeo é 330 daltons e 1 dalton equivale a  $1,67 \times 10^{-24}$ g.
3. Considerando ainda o DNA de uma célula haplóide da galinha, quantos tipos de moléculas de DNA são possíveis? Qual a implicação biológica desse resultado?
4. O gene da ovoalbumina da galinha possui 8 éxons e 7 íntrons. a) A primeira sequência na posição 5' da cadeia senso é um éxon. Considerando que os éxons e íntrons estão numerados em ordem crescente da posição 5' → 3', esquematize a estrutura do pré-mRNA transcrito desse gene. b) Suponha que a cadeia polipeptídica codificada pelo gene da ovoalbumina possua 200 aminoácidos. Sabendo-se que o primeiro é a lisina e que o gene possui 2.016 nucleotídeos, quantas bases constituem os íntrons?
5. Uma cadeia da molécula de DNA contém a seguinte proporção de bases nitrogenadas: 20% A, 30% C, 40% G e 10% T. Quais são as proporções dessas mesmas bases esperadas na hélice dupla desse DNA?

6. O genoma haplóide do bicho-da-seda tem apenas uma cópia do gene da fibroína - proteína da seda. Durante a produção da seda, cada célula produz  $10^9$  moléculas dessa proteína, sendo que o gene é transcrito  $10^4$  vezes. Quantas vezes uma mesma molécula do mRNA é traduzida?
7. Considere as 60 proteínas diferentes de uma espécie vegetal, cada uma com tamanho médio de 120 aminoácidos. Qual o número de nucleotídeos dos éxons relacionados com a síntese dessas proteínas? Admita que o primeiro aminoácido de todas as proteínas não seja a metionina.
8. O grão do milho pode ser liso ou enrugado. O liso é decorrente de um alto conteúdo de amido no endosperma, e o enrugado é decorrente da presença de açúcares solúveis em água no lugar do amido. Sabe-se que o tipo de açúcar do endosperma é controlado por um par de alelos, e que cada um codifica uma cadeia polipeptídica. Qual seria a explicação bioquímica para formar amido ou açúcares solúveis em água?
9. Em um dos genes da soja que codifica para a antocianina, existem 1.212 bases nitrogenadas nos seus éxons. Considerando que na cadeia polipeptídica codificada por esse gene o primeiro aminoácido é a metionina, pergunta-se:
- Qual o número de aminoácidos dessa proteína?
  - Qual o número de bases nitrogenadas do mRNA?
  - Qual o número de tRNAs envolvidos na síntese de uma molécula? Para sintetizar cada cadeia polipeptídica, quantos ribossomos são necessários?
10. No sorgo, um determinado alelo apresenta a seguinte sequência de bases:

Éxon 1	Íntron 1	Éxon 2	Íntron 2	Éxon 3
5' ATG CAC CGA	AAT GAT	AGA ATT	ACG CCC	CCA CCA CCA CCA CAA TAG A 3'
3' TAC GTG GCT	TTA CTA	TCT TAA	TGC GGG	GGT GGT GGT GGT GTT ATC T 5'

A cadeia antissenso dessa molécula tem a timina como primeira base na posição 3'. A partir desse alelo pergunta-se:

- Qual é a sequência de bases no mRNA?
- Qual o número de aminoácidos que farão parte da proteína codificada por esse alelo?
- Se forem sintetizadas 10 moléculas de proteína, qual o número total de tRNA e de ribossomos que irão participar?
- Qual é a sequência de aminoácidos na proteína?

Genética na Agropecuária

e) Considerando a cadeia antissenso a partir da extremidade 5', se ocorrer a deleção da quinta base - timina - e a adição de uma citosina após a 18ª base, qual será a sequência de aminoácidos na cadeia polipeptídica mutante?

# 4 ORGANIZAÇÃO DO MATERIAL GENÉTICO E DIVISÃO CELULAR

## 4.1 INTRODUÇÃO

A forma de organização do material genético nas células varia em função da complexidade do organismo. Em organismos procariontes - bactérias e algas verde-azuladas, não há separação entre núcleo e citoplasma e o material genético encontra-se em um mesmo compartimento denominado nucleóide. Nesses organismos, o cromossomo é constituído apenas de DNA, que normalmente não se associa a qualquer outra molécula, estando livre para realizar suas funções.

Já, os organismos superiores - eucariontes - possuem núcleo diferenciado, no qual se encontra a quase totalidade das informações hereditárias. O núcleo é geralmente esférico e pode ser observado ao microscópio ótico, quando a célula é tratada com corantes básicos. Os seguintes elementos constituem o núcleo e serão descritos a seguir: membrana nuclear, cariolinfa, cromatina e nucléolo.

**1. Membrana nuclear** - também chamada de carioteca, é constituída de duas unidades de membrana separadas uma da outra por um espaço de 100 Å a 150 Å. Uma estrutura peculiar da carioteca é a presença de poros que colocam em contato a cariolinfa e o citoplasma. Na verdade, os poros apresentam uma estrutura complexa. Seu diâmetro é de 500 Å a 800 Å, porém não se verifica um livre contato da cariolinfa com o citoplasma. Nesse local, existe uma substância detectada pela microscopia eletrônica. Além disso, nos bordos do poro, existe uma estrutura circular chamada **ânulo**, formada de oito grânulos presentes na superfície nuclear e citoplasmática. A estrutura do poro é complexa e funciona como uma válvula abrindo e fechando, permitindo ou não a passagem de macromoléculas que são selecionadas por proteínas presentes no complexo do poro. A exportação de RNA's do núcleo para o citoplasma e a importação de proteínas do citoplasma para o núcleo são reguladas por essas proteínas presentes no complexo do poro. A estrutura do poro poderá ser melhor entendida por meio da figura 4.1.

Os poros ocupam de 5 a 36% da superfície da membrana nuclear e são mais frequentes nas células com intensa atividade de transcrição.

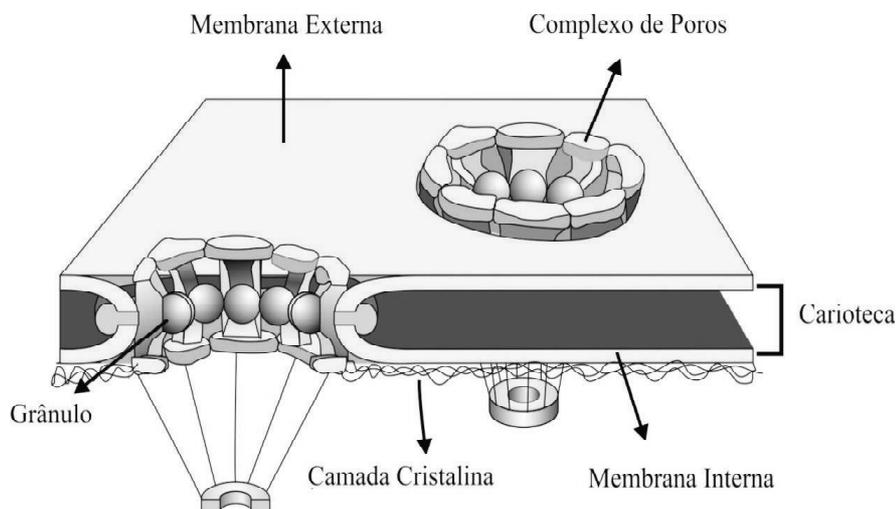


FIGURA 4.1. Membrana nuclear e corte transversal de um poro.

**2. Cariolinfa** - a cariolinfa ou nucleoplasma é a parte fluída do núcleo. É de natureza coloidal, não corável e rica em proteínas.

**3. Cromatina** - é o constituinte mais importante do núcleo e é constituída principalmente por DNA e proteínas, sendo a quantidade de DNA constante e a quantidade de proteína variável, quando consideramos as células de uma espécie com mesmo número de cromossomos.

Durante a intérfase, a célula apresenta grande atividade metabólica, por isso os cromossomos estão descondensados e são chamados de **cromatina**. Na divisão, a cromatina se condensa para tornar possível a movimentação dos cromossomos para os polos da célula.

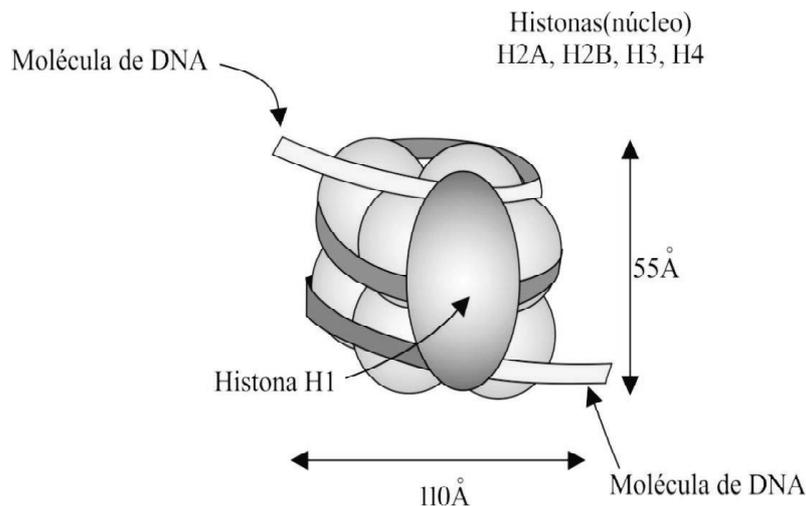
A cromatina se encontra na forma de eucromatina e a heterocromatina. A **eucromatina** corresponde à porção do cromossomo que está descondensada, cora-se menos intensamente e possui a grande maioria dos genes. Já a **heterocromatina** se divide em constitutiva e facultativa. A constitutiva é a parte do cromossomo permanentemente condensada em todas as células do organismo. Corresponde às regiões próximas do centrômero e telômero e também os cromossomos B, ou extranumerários, que ocorrem em algumas gramíneas como no milho. Essa porção da cromatina é geralmente constituída por sequências pequenas de DNA, repetidas até um milhão de vezes e chamadas de DNA altamente repetitivo, sendo, normalmente, desprovida de genes. A heterocromatina se caracteriza por apresentar uma replicação tardia, no final do período de replicação do DNA. A heterocromatina facultativa é aquela condensada na intérfase só de alguns cromossomos sexuais, como por exemplo, o cromossomo X, formando o corpúsculo de Bahr que ocorre nas fêmeas de mamíferos.

A condensação da cromatina é um fenômeno intrigante pela sua intensidade e complexidade. Apenas para ilustrar, no milho existem 20 cromossomos nas células somáticas.

Durante a metáfase, que é a fase em que os cromossomos encontram-se na condensação máxima, se eles fossem enfileirados, mediriam mais ou menos  $80 \mu\text{m}$ . Porém, o comprimento das 20 moléculas de DNA dos mesmos 20 cromossomos, se fossem enfileiradas, mediriam 4,62 m. Portanto, a redução de comprimento do DNA do milho até atingir o estágio de cromossomos metafásicos é da ordem de 57 mil vezes.

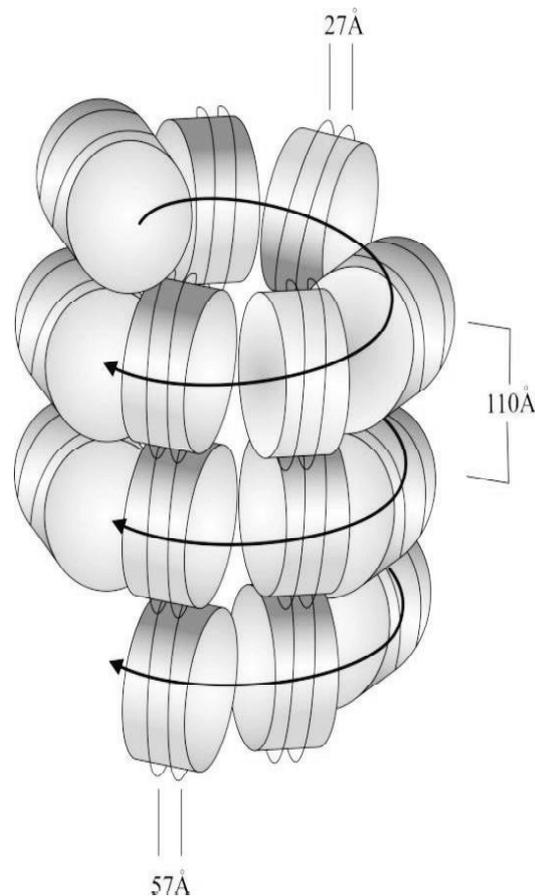
A condensação da cromatina, para formar os cromossomos, envolve vários estádios. No primeiro estádio, é formada uma estrutura chamada **nucleossomo** e que é a base para formação da fibra mais fina da cromatina com  $110 \text{ \AA}$  de diâmetro.

Na constituição do nucleossomo, o DNA está intimamente associado a cinco tipos de proteínas básicas, as **histonas**, e que são denominadas de H1, H2A, H2B, H3 e H4. O nucleossomo é uma estrutura com aproximadamente  $110 \text{ \AA}$  de diâmetro, formado por um núcleo com oito moléculas de histonas sendo duas moléculas de cada uma das histonas H2A, H2B, H3 e H4. Em torno desse núcleo, enrola-se um segmento de DNA, em média de 146 pares de base, num total de 1,75 volta (Figura 4.2). Entre dois nucleossomos vizinhos, existe um segmento de DNA de cerca de 54 pares de bases. Externamente a cada nucleossomo associa-se à histona H1, com a função provável de aproximar dois nucleossomos vizinhos para formação da fibra de  $110 \text{ \AA}$  de diâmetro. Assim, considerando os 200 pares de bases do DNA em cada nucleossomo, multiplicado pelo comprimento de cada par de bases, que é de  $3,4 \text{ \AA}$ , temos o comprimento do segmento de DNA de  $680 \text{ \AA}$ . Como esse comprimento é reduzido ao diâmetro do nucleossomo de  $110 \text{ \AA}$ , deduz-se que a condensação, nesse primeiro estádio, é de aproximadamente sete vezes.



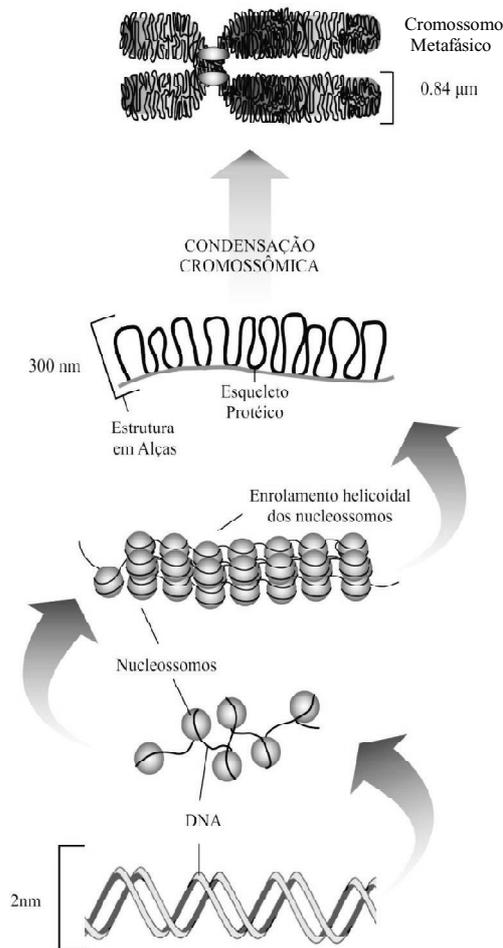
**FIGURA 4.2.** Diagrama de um nucleossomo mostrando as oito moléculas de histonas de quatro tipos (duas de H2A, H2B, H3, H4) circundadas por 1,75 voltas da hélice dupla de DNA. Observe que a histona H1 liga-se externamente a esta estrutura.

No segundo estágio de condensação da cromatina, provavelmente a fibra de 110 Å assume uma estrutura em ziguezague, chamada de **solenóide** (Figura 4.3). Em consequência, forma-se uma fibra com diâmetro de aproximadamente 300 Å e que pode ser observada no núcleo interfásico. Nesse segundo estágio, o comprimento do DNA fica cerca de 40 vezes mais curto. Esse é o nível de condensação da eucromatina. Existem outros estádios de condensação para que a cromatina se transforme nos cromossomos nas divisões celulares. Considerando novamente os cromossomos metafásicos do milho, que são 57 mil vezes mais curtos do que o DNA, verifica-se que a maior intensidade da condensação ocorre somente após a célula iniciar a divisão celular. Nessa fase, o solenóide sofre novas espiralizações e dobramentos que são contidos em um esqueleto protéico. Essa nova estrutura se enrola, dobra-se e constituirá o cromossomo metafásico, atingindo, portanto, o grau máximo de condensação (Figura 4.4).



**FIGURA 4.3.** Modelo de um solenóide ilustrando o segundo estágio de condensação da cromatina dos organismos eucariontes. Essa estrutura é responsável pela condensação de cerca de 40 vezes, formando uma fibra com cerca de 300 Å de diâmetro.

## Organização do Material Genético e Divisão Celular

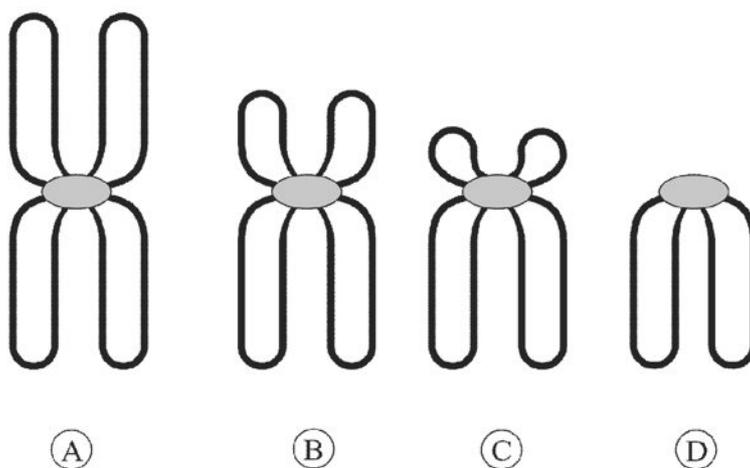


**FIGURA 4.4.** Esquema de condensação da cromatina a partir da molécula de DNA até atingir o estágio de cromossomo metafásico.

Os cromossomos foram descobertos em 1842 por C. Von Nageli. Em 1879, W. Flemming empregou o termo cromatina para os cromossomos descondensados no núcleo interfásico e que se coravam com corantes básicos. A palavra cromossomo foi utilizada por W. Waldeyer em 1888, para se referir à cromatina condensada durante as divisões celulares.

Morfologicamente, os cromossomos têm o aspecto geral de um bastão com uma ou duas regiões mais estreitas. Uma dessas regiões é o **centrômero** ou constrição primária. Esta é comum a todos os cromossomos e é o local onde se prendem as fibras do fuso que movimentam os cromossomos durante a divisão celular. O centrômero, dependendo de sua posição, divide o cromossomo em dois segmentos chamados de braços. Com base nos comprimentos relativos dos braços, existem quatro tipos de cromossomos (Figura 4.5). Esses tipos são definidos por meio da razão de braço (rb) que corresponde ao comprimento do

braço maior dividido pelo comprimento do braço menor. Os tipos de cromossomos são: **metacêntrico** com  $rb = 1,00 - 1,49$ ; **submetacêntrico** com  $rb = 1,50 - 2,99$ ; **acrocêntrico** com  $rb > 3,00$ ; **telocêntrico** com  $rb = \infty$ . A segunda região mais estreita é a constrição secundária que só ocorre em alguns cromossomos e é o local onde se forma o nucléolo, sendo também chamada de **região organizadora do nucléolo (RON)**. As extremidades do cromossomo são chamadas de **telômeros**, os quais têm a propriedade de impedir que dois cromossomos se fundam.



**FIGURA 4.5.** Tipos de cromossomos. A) metacêntrico; B) submetacêntrico, C) acrocêntrico e D) telocêntrico.

Quando uma célula inicia a divisão, cada cromossomo é formado por dois filamentos paralelos unidos pelo centrômero. Cada filamento recebe o nome de **cromátide** e possui uma molécula de DNA (de hélice dupla). Portanto, num cromossomo com duas cromátides (cromossomo duplicado), existem duas moléculas de DNA idênticas, em consequência da replicação semiconservativa da única molécula de DNA do cromossomo interfásico que precede a divisão celular. Por isso, diz-se que um cromossomo duplicado possui duas cromátides irmãs (Figura 4.5).

Para considerar a quantidade de DNA por célula, tomemos como exemplo novamente o milho. Num gameta dessa espécie existem 10 cromossomos diferentes, cada um com uma molécula de DNA. Denomina-se de C a quantidade de DNA desse gameta. Quando dois gametas se unem, forma-se o zigoto que passa a ter 2C de DNA. Quando o DNA do zigoto se replica para ocorrer a primeira mitose, a quantidade de DNA chega a 4C, que novamente se reduz a 2C nas células filhas da mitose e a C, nos gametas.

**4. Nucléolo** - é uma estrutura geralmente esférica, associada à constrição secundária do cromossomo e constituído de RNA ribossômico (rRNA) transcritos da RON. O nucléolo

é maior nas células com grande atividade de síntese protéica e é o local onde é produzido o ribossomo. Essa produção consiste na associação dos rRNA dos tipos 28S, 18S, 5,8S e 5S com cerca de 70 proteínas diferentes.

## 4.2 DIVISÃO CELULAR

Uma planta de milho, por exemplo, surge a partir da união de dois gametas – um dos núcleos reprodutivos do grão de pólen e a oosfera - para dar origem a uma célula denominada ovo ou zigoto. Essa célula se multiplica inúmeras vezes e se diferencia, originando o embrião da semente. Este, por sua vez, quando posto a germinar, dará início à formação de uma planta adulta por intermédio também dos processos de crescimento e diferenciação. Sendo assim, na formação de uma planta ou mesmo de um animal, estão envolvidos dois processos básicos: o crescimento e a diferenciação.

Uma planta de milho adulta possui milhões de células, de modo que é fácil entender que o crescimento se manifesta via o aumento no número de células. O crescimento também ocorre em razão do aumento no tamanho das células, porém esse incremento é normalmente limitado e a sua contribuição para o crescimento total do indivíduo é insignificante em relação ao aumento do número de células.

Para aumentar o número de células, é necessário que a célula pré-existente se divida em duas e essas duas em quatro e assim por diante. O processo de divisão celular é conhecido por mitose. Tanto nos vegetais como nos animais, a mitose ocorre principalmente nas células não diferenciadas do corpo. Nos vegetais, essas células correspondem aos meristemas e nos animais elas ocorrem principalmente nos epitélios e na epiderme.

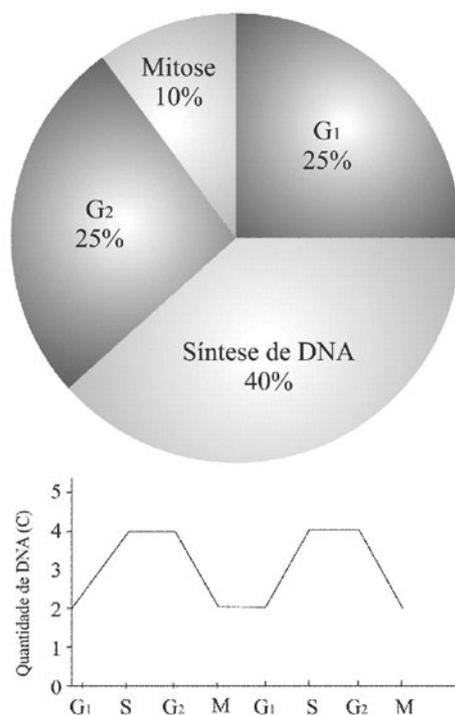
A maioria dos eucariotos é diplóide, isto é, possui os diferentes cromossomos organizados aos pares. Os cromossomos que constituem um par são chamados de **homólogos**, sendo morfológicamente idênticos e contém os mesmos genes. O número gamético de uma espécie é **n** cromossomos e o número somático é **2n**. O número básico de cromossomos de uma espécie é **x**. Assim, espécies diplóides são aquelas que apresentam  $2n = 2x$  cromossomos, isto é, o conjunto básico de cromossomos ou genoma é repetido duas vezes ( $2x$ ). O milho, que tomamos como exemplo, possui em cada célula  $2n = 2x = 20$  cromossomos, ou seja, dez pares de cromossomos homólogos, isto é, toda a informação necessária para formar uma planta de milho está distribuída nesses dez pares de cromossomos. Na Tabela 4.1, estão apresentados os números de cromossomos de algumas espécies. A maioria das espécies tem número par de cromossomos porque são diplóides ou mesmo poliplóides e possuem reprodução sexuada.

**TABELA 4.1.** Número de cromossomos de algumas espécies.

Nome comum	Nome científico	Número de cromossomos nas células somáticas
<b>Plantas</b>		
Melância	<i>Citrus vulgaris</i>	22
Milho	<i>Zea mays</i>	20
Tomate	<i>Lycopersicon esculentum</i>	24
Feijão	<i>Phaseolus vulgaris</i>	22
Arroz	<i>Oryza sativa</i>	24
Trigo	<i>Triticum vulgaris</i>	42
Batata	<i>Solanum tuberosum</i>	48
Samambaia	<i>Ophioglossum reticulatum</i>	1260
<b>Mamíferos</b>		
Bovinos	<i>Bos taurus</i>	60
Suínos	<i>Sus scrofa</i>	38
Cavalo	<i>Equus caballus</i>	64
Jumento	<i>Equus asinus</i>	62
Cão	<i>Canis familiares</i>	78
Gato	<i>Felis catus</i>	38
Homem	<i>Homo sapiens</i>	46
<b>Aves</b>		
Galinhas	<i>Gallus domesticus</i>	78
<b>Insetos</b>		
Formiga	<i>Myrmecia pilosula</i>	2
Drosófila	<i>Drosophylla melanogaster</i>	8

Embora os cromossomos homólogos possuam a mesma morfologia, geralmente há considerável diferença em forma e tamanho, quando se consideram os cromossomos não homólogos, observando-se o mesmo quando se comparam a cromossomos de espécies diferentes.

A célula, antes de entrar no processo mitótico propriamente dito, passa por um ciclo interfásico. Esse ciclo interfásico é uma sequência de eventos que ocorre entre o final de uma divisão e o início de outra. Dessa forma, o ciclo interfásico pode ser considerado como um período de preparo para a próxima divisão. Ele é dividido em três estádios; a duração de cada um desses períodos varia de espécie para espécie, de órgão para órgão e mesmo entre as células de um órgão. Na Figura 4.6, mostra o ciclo celular, isto é, a intérfase e a mitose, de *Vicia faba* que tem uma duração em torno de 20 horas. A quantidade de DNA, medida em picogramas ( $10^{-12}g$ ), de uma célula haplóide é C. Assim, nos estádios  $G_1$  e  $G_2$ , a célula apresenta 2C e 4C de DNA, respectivamente.



**FIGURA 4.6.** Ciclo celular de *Vicia faba* mostrando a duração relativa das três fases da intérfase (G<sub>1</sub>, S e G<sub>2</sub>), da Mitose e a quantidade de DNA presente nas células em cada estágio.

a) Estádio G<sub>1</sub> - Nesse estágio, a célula aumenta de tamanho e há uma intensa síntese protéica e de ácido ribonucléico. A maioria das proteínas sintetizadas terá função enzimática no processo de replicação do DNA.

b) Estádio S - É o estágio de síntese, no qual ocorre a replicação do DNA. Essa replicação é semiconservativa (ver Capítulo 3), de modo que, após a replicação, cada cromossomo passa a ser composto de duas **cromátides irmãs**. Essas cromátides partilham de um centrômero comum e apresentam evidentemente a mesma sequência de bases, isto é, a mesma constituição genética.

c) Estádio G<sub>2</sub> - Nesse estágio ocorrem algumas sínteses de RNA e proteínas. É o período que vai da replicação ao início do processo mitótico, sendo de menor duração que os demais.

**Mitose** - A mitose é constituída por uma sequência contínua de eventos e que para facilitar é dividida em fases denominadas **prófase, metáfase, anáfase e telófase**. Considere novamente uma célula de milho como exemplo. No entanto, para simplificar, utilizaremos apenas dois pares de cromossomos, portanto reduzindo-se numa célula  $2n = 4$  (Figura 4.7), sendo que em um dos pares de cromossomos homólogos, estão os alelos responsáveis pela cor da planta, representados por **R** que determina planta roxa e por **r** para planta verde, e no

segundo par de homólogos os alelos responsáveis pela cor da semente, sendo **Y** responsável por semente amarela e **y** por semente branca.

**Prófase** - A prófase é marcada pela condensação dos cromossomos, quando o núcleo se apresenta como se fosse um novelo de lã com fios emaranhados. Durante a prófase, a condensação dos cromossomos é progressiva. Nessa fase, os cromossomos já se encontram com dois filamentos longitudinais denominados cromátides irmãs, e que são os produtos da replicação do DNA na intérfase. No final da prófase, observa-se o desaparecimento dos nucléolos e da membrana nuclear, o deslocamento dos cromossomos para o equador da célula e a formação das fibras do fuso no citoplasma.

**Metáfase** - A metáfase corresponde ao período em que os cromossomos estão no equador da célula formando a placa metafásica e estão no máximo de sua condensação. Nessa fase, cada cromossomo está preso às fibras do fuso por meio de seu centrômero. Como se nota na Figura 4.7, as fibras unem as cromátides irmãs por intermédio de seus centrômeros aos pólos opostos da célula.

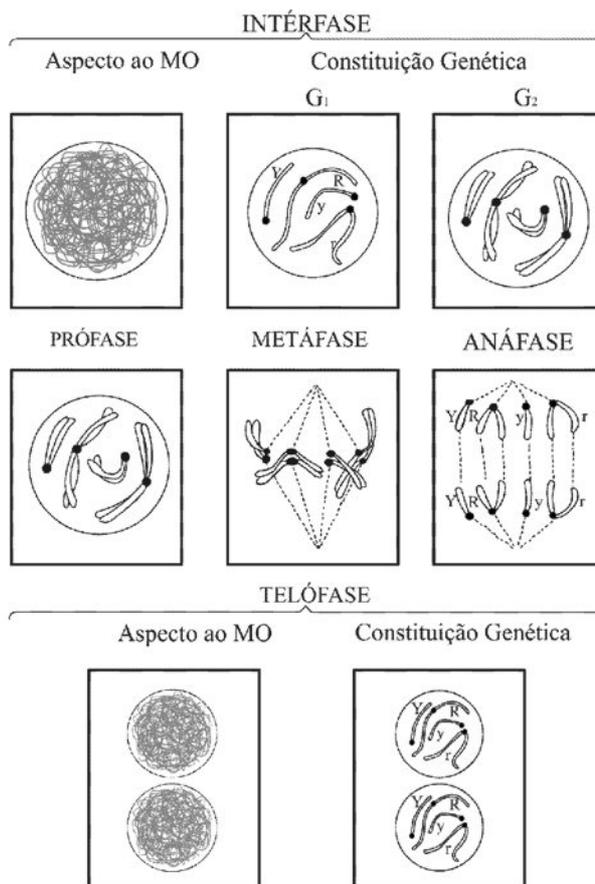


FIGURA 4.7. Mitose.

**Anáfase** - No início da anáfase, ocorre a separação dos centrômeros, de modo que cada cromátide passa a ter o seu próprio centrômero. As cromátides irmãs, agora livres, dirigem-se aos pólos opostos. Após a separação, as cromátides passam a ser denominadas de cromossomos.

**Telófase** - Quando os cromossomos chegam aos pólos, termina a anáfase e inicia-se a telófase. Os acontecimentos dessa fase são o inverso dos observados na prófase, isto é, ocorre a formação da membrana nuclear, os cromossomos se descondensam e, em seguida, reaparecem os nucléolos. Simultaneamente, o fuso desaparece e a célula se divide em duas células filhas geneticamente idênticas. A identidade em constituição genética das células filhas pode ser notada, comparando-se com a constituição da célula mãe na fase  $G_1$ , e é consequência da replicação semiconservativa dos cromossomos na fase S e também da separação das cromátides irmãs para os pólos opostos na anáfase.

### 4.3 CONSEQUÊNCIAS GENÉTICAS DA MITOSE

Vimos que uma célula mãe produz por meio da mitose duas células idênticas geneticamente. Isto significa que todas as células que compõem uma planta de milho - células do tecido somático - foram derivadas da célula ovo ou zigoto, via processo mitótico e, portanto, são idênticas a ela. Surge então a pergunta: já que as células somáticas são todas iguais, como explicar a formação de raízes, caule, folhas, pendão, boneca e grãos? Mais ainda, por que esses órgãos ocorrem sempre no local certo e com suas características? As respostas a estas indagações são obtidas conhecendo-se o processo de diferenciação celular. Considerando que todas as células em vegetais são **totipotentes**, isto é, contêm informações suficientes para originar um indivíduo completo, idêntico àquele ao qual elas pertencem, pode-se dizer, de um modo muito simplista, que a diferenciação celular nada mais é do que o ato de “ligar” e “desligar” os alelos de diferentes genes no local certo e no momento certo. Assim, nos tecidos que constituem a raiz da planta, só estão “ligados” aqueles genes que condicionam características associadas às raízes. Do mesmo modo, o alelo que condiciona semente amarela só será “ligado” no momento de formação do grão e apenas em algumas células que estão presentes na inflorescência feminina.

Em animais, células totipotentes são aquelas capazes de diferenciarem-se em todos os tecidos e são encontradas nos embriões nas primeiras fases de divisão, isto é, quando o embrião tem de 16 a 32 células. As células pluripotentes, ou multipotentes podem diferenciarem-se em quase todos os tecidos, exceto a placenta e os anexos embrionários e são encontradas nos embriões com 32 a 64 células. As células totipotentes e pluripotentes constituem-se nas células-tronco embrionárias.

O conhecimento do processo mitótico tem uma importância fundamental na agropecuária, pois ele não só nos explica como ocorre a multiplicação celular como também

nos permite entender por que certas espécies vegetais, que se reproduzem assexuadamente, mantêm a sua constituição genética. Pode-se afirmar, por exemplo, que um pomar contendo plantas cítricas, formado com mudas oriundas de uma única planta matriz, é uma população de plantas geneticamente idênticas, denominada clone. O processo de clonagem, embora há bastante tempo conhecido e utilizado no reino vegetal, tem despertado atenção e interesse em animais, após ter sido verificado seu potencial na clonagem em várias espécies (Capítulo 17). Essa descoberta abriu a possibilidade do emprego dessa técnica na produção de animais superiores para exploração econômica. Contudo, devemos estar cientes de suas implicações no que diz respeito à redução da variabilidade genética e dos perigos que isso pode trazer à exploração animal.

#### 4.4 FORMAÇÃO DOS GAMETAS

A grande maioria dos organismos superiores se reproduz por via sexuada, que consiste de dois acontecimentos principais, a **gametogênese** e a **fertilização**.

Gametogênese é a denominação genérica para o processo de formação de gametas, tanto em animais como em vegetais. Em animais do sexo masculino, a gametogênese é chamada de **espermatoxênese** porque os gametas formados são os **espermatozóides**. No caso feminino, ocorre a **ovogênese** a qual culmina com a formação do **óvulo**. Em vegetais, a formação dos gametas masculinos é conhecida por **microsporogênese**, enquanto que os gametas femininos são produzidos pela **megasporogênese**.

##### Gametogênese em animais

O processo de formação de gametas em animais está mostrado na Figura 4.8a e 4.8b.

A espermatoxênese se origina no epitélio germinal dos túbulos seminíferos dos testículos. Dentro desses túbulos, ocorrem células que sofrem repetidas divisões mitóticas até formarem os **espermatoxônios**. Estes crescem e se diferenciam nos **espermatoxócitos primários**, os quais têm capacidade de sofrer meiose. Após a primeira divisão meiótica, são produzidos os **espermatoxócitos secundários** que sofrem a segunda meiose, originando os **espermatoxídes**. Estas passam por um processo de maturação, formam cauda e dão origem aos **espermatozóides**.

A ovogênese ocorre no epitélio germinal do ovário. Por crescimento e armazenamento de citoplasma, a ovogônia origina o ovócito primário que sofre a primeira divisão meiótica, produzindo duas células de tamanhos diferentes, o ovócito secundário e o corpúsculo polar primário. Em algumas situações, o corpúsculo polar primário pode sofrer a segunda divisão meiótica, produzindo dois corpúsculos polares secundários. A segunda divisão meiótica do ovócito secundário produz um corpúsculo polar secundário e uma ovótide, a qual passa por crescimento, diferenciação e maturação para originar o óvulo. Todos os três corpúsculos polares se degeneram e não tomam parte na fertilização.

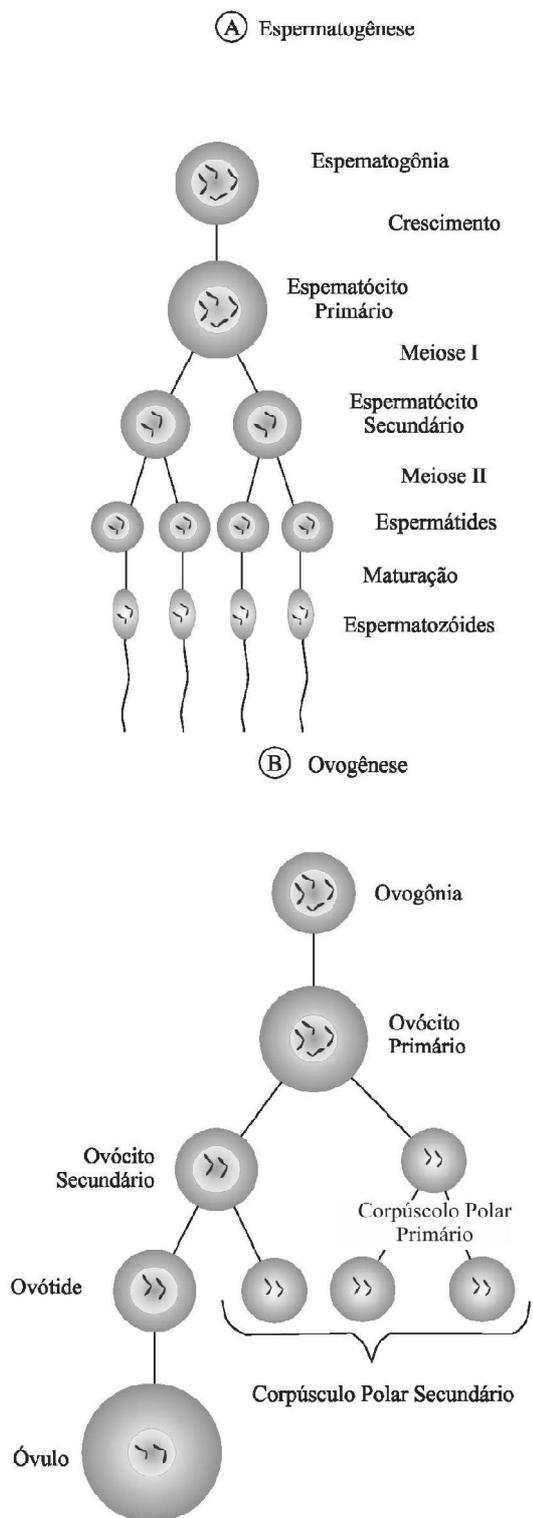
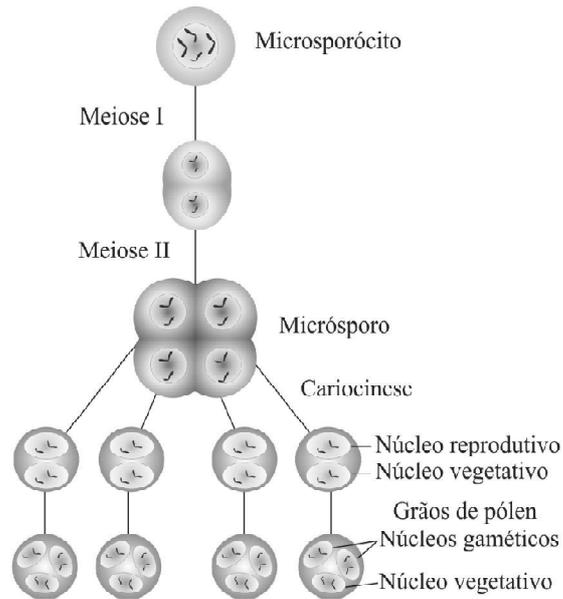


FIGURA 4.8. Gametogênese animal - A) Espermatogênese, B) Ovogênese.

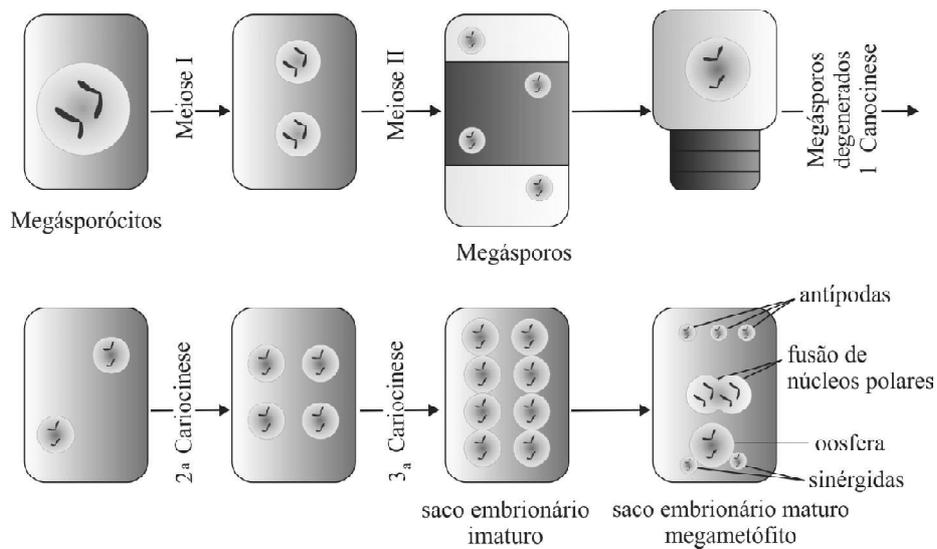
### Gametogênese em vegetais

A gametogênese, que será descrita sucintamente aqui, é aquela típica das angiospermas (Figura 4.9).

#### (A) Microsporogênese



#### (B) Megasporogênese



**FIGURA 4.9.** Gametogênese vegetal. A) Microsporogênese, B) Megasporogênese.

A microsporogênese ocorre nos sacos polínicos dentro das anteras das flores, resultando na formação dos grãos de pólen. A célula mãe dos grãos de pólen - microsporócito primário - sofre a primeira divisão meiótica produzindo dois microsporócitos secundários que, após a segunda divisão meiótica, originam quatro micrósporos. Estes passam por uma mitose, sem a citocinese, isto é, uma endomitose, produzindo uma célula com dois núcleos. Em seguida, um desses núcleos passa por uma segunda endomitose, resultando um grão de pólen contendo três núcleos, um vegetativo e dois reprodutivos ou gaméticos.

A megasporogênese ocorre dentro do ovário, resultando um órgão reprodutivo com oito núcleos chamado de saco embrionário. A formação do saco embrionário se inicia quando um megasporócito se divide por meiose, formando duas células haplóides. A segunda divisão meiótica produz uma estrutura contendo quatro células, linearmente dispostas, chamadas megásporos. Após a meiose, três megásporos se degeneram e o remanescente sofre três endomitoses sucessivas. O resultado é uma célula grande contendo oito núcleos e que recebe a denominação de saco embrionário. O saco embrionário é envolto pela nucela e por duas camadas de tecido materno chamadas de integumento. Esse órgão especializado recebe a denominação de óvulo.

Em uma das extremidades do saco embrionário, há uma abertura - micrópila - na qual penetra o tubo polínico. Três dos oito núcleos do saco embrionário se localizam próximos à micrópila, dois são as sinérgidas que se degeneram, e o terceiro é a oosfera. Três outros núcleos se posicionam na extremidade oposta e se degeneram, são as antípodas. Os outros dois núcleos se fundem aproximadamente na região mediana do saco embrionário, dando origem ao núcleo polar.

Convém salientar que o termo óvulo representa estruturas distintas quando se consideram animais ou vegetais. Enquanto em animais, o óvulo é uma única célula com função reprodutiva - gameta feminino, em vegetais, ele representa um órgão, dentro do qual está presente o gameta feminino - oosfera -, além de outros núcleos que não tomam parte da fertilização.

### **Fertilização**

A fertilização é um fenômeno que consiste na penetração do óvulo por um gameta masculino, originando um zigoto. Para isso, é necessário que ocorra a fusão dos núcleos dos dois gametas.

### **Fertilização em animais**

Para que ocorra a fertilização em animais, é necessário que o espermatozóide atravesse duas camadas que recobrem o óvulo. Para isso, o espermatozóide deve liberar enzimas líticas que digerem certos componentes dessas camadas, facilitando sua penetração. Tão logo um espermatozóide penetra o óvulo, este se torna impenetrável a outros espermatozóides. Ocorre então a fusão dos dois núcleos haplóides, gerando um único núcleo diplóide, completando, desse modo, a fertilização.

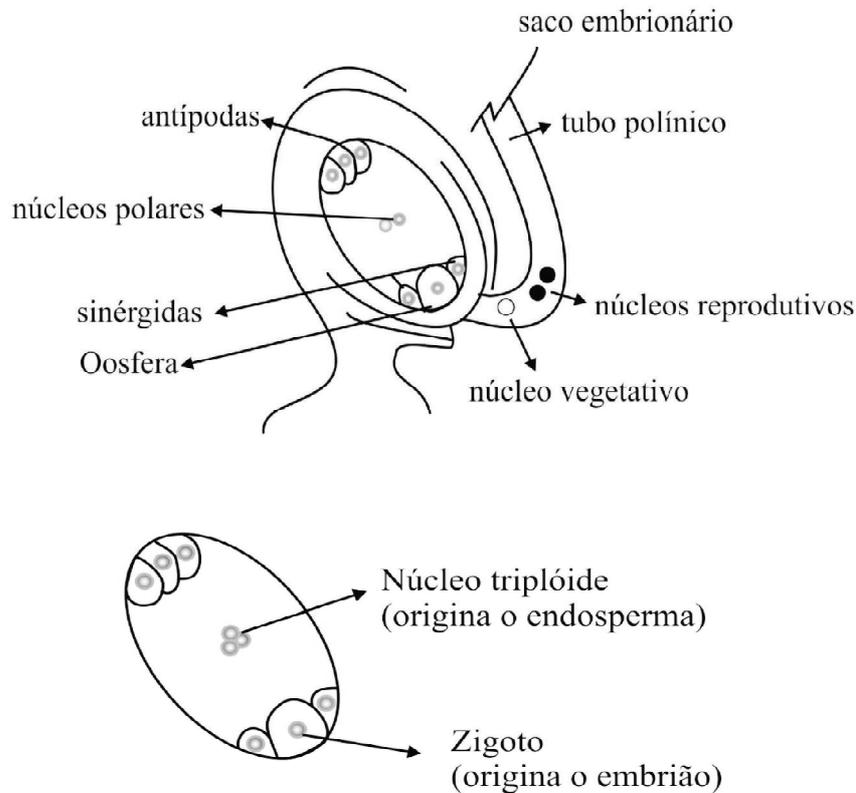
Os gêmeos univitelinos ou idênticos são oriundos por mitose de um único zigoto formado a partir da fecundação de um óvulo e de um espermatozóide. Portanto, são clones de um mesmo zigoto e possuem a mesma constituição genética. Os gêmeos bivitelinos ou fraternos são formados a partir da fecundação de dois óvulos e de dois espermatozoides diferentes. Assim sendo, são originados de dois zigotos geneticamente diferentes.

#### **BOX 4.1. ESPERMATOGÊNESE EM MAMÍFEROS**

A espermatogênese em mamíferos se inicia na puberdade e é contínua até a velhice. A ovogênese se inicia na fase embrionária e os ovócitos primários permanecem no diplóteno da prófase I da meiose até a puberdade. A ovocitação ocorre no período compreendido entre a primeira menstruação ou cio e a menopausa. Na maioria dos mamíferos, a fertilização ocorre antes de a ovogênese ter acabado. A penetração do espermatozóide estimula o ovócito secundário a prosseguir a meiose que se encontra estacionada na metáfase II.

#### **Fertilização em vegetais**

A fertilização em plantas envolve a fusão dos dois núcleos reprodutivos do grão de pólen, sendo um com a oosfera e o outro com os núcleos polares. Por essa razão, em vegetais ocorre a chamada **dupla fertilização** (Figura 4.10). O processo se inicia quando um grão de pólen se aloja no estigma da flor. Por meio de estímulos hormonais e umidade, presentes no estigma, o grão de pólen germina emitindo o tubo polínico que cresce através do interior do estilete em direção ao ovário. As sinérgidas desempenham um papel importante, por meio de estímulos químicos e físicos, no crescimento e na orientação do tubo polínico até a entrada da micrópila. O tubo polínico penetra o óvulo através da micrópila e libera seus dois núcleos reprodutivos, enquanto que o núcleo vegetativo desaparece. Após a chegada do tubo polínico, as sinérgidas se degeneram. Um dos núcleos reprodutivos se funde com a oosfera, gerando a célula-ovo ou zigoto, a qual por mitoses sucessivas dará origem ao embrião da semente. O outro núcleo reprodutivo se funde com os dois núcleos polares, formando uma célula triploide ( $2n = 3x$ ), que se divide mitoticamente para originar o endosperma. Portanto, o endosperma da semente contém dois genomas da planta mãe e um genoma do genitor masculino.



**FIGURA 4.10.** Dupla fertilização em vegetais.

### Meiose

Como visto na gametogênese, a meiose é essencial para a formação dos gametas, que são os agentes que passam os alelos dos pais para os filhos por intermédio da reprodução sexuada. Nessa divisão, ocorrem vários acontecimentos, que se constituem em fundamentos de diversos tópicos da genética. Assim, será dada ênfase, principalmente, a esses acontecimentos, com o objetivo de mostrar a importância da meiose como base para o entendimento da genética.

A meiose difere da mitose em diversos aspectos. Um deles é que após a replicação dos cromossomos ocorrem duas divisões celulares. Outro aspecto é que ela se processa apenas em certos estádios de desenvolvimento do organismo e em regiões específicas do corpo do indivíduo, em células denominadas meiócitos. Ainda, ao contrário da mitose, as células filhas não sofrem novas meioses e os cromossomos meióticos não se comportam individualmente, mas associam-se, como será visto em seguida.

Como na mitose, o estudo da meiose é feito também em fases e, antes da divisão, a célula passa igualmente por um período de preparo - a intérfase. Porém, a meiose em si

geralmente gasta um tempo maior do que o observado com a mitose. Em seguida, será apresentado um comentário resumido das diversas fases da meiose, considerando como exemplo a mesma célula de milho, esquematizada na Figura 4.7.

Como a meiose consta de duas divisões celulares, tem-se a divisão I, ou meiose I, e a divisão II, ou meiose II. Em cada uma dessas divisões geralmente se observam a prófase, a metáfase, a anáfase e a telófase.

**Prófase I** (Figura 4.11). Essa é uma fase bem mais extensa do que a prófase da mitose, além de ocorrerem diversos acontecimentos que só são observados na meiose. Por estas razões, ela é dividida em subfases, que são o leptóteno, zigóteno, paquíteno, diplóteno e diacinese. No **leptóteno**, inicia-se a condensação dos cromossomos, só que o núcleo se apresenta como um novelo de fios bem mais finos do que os observados no início da prófase mitótica. Em seguida, no **zigóteno**, ocorre a sinapse, que é o pareamento dos cromossomos homólogos. Esse pareamento se dá entre regiões exatamente correspondentes, graças ao desenvolvimento de uma estrutura denominada complexo sinaptonêmico. Quando o pareamento se completa, tem-se aparentemente os cromossomos reduzidos à metade, sendo que cada um corresponde a um par de homólogos, denominado bivalente. O período em que os homólogos permanecem pareados corresponde ao **paquíteno** e é a fase em que ocorre a permuta genética (do inglês crossing-over). Esta corresponde à troca de partes entre cromátides homólogas não irmãs (Capítulo 9).

É importante salientar que os cromossomos apresentam-se bastante distendidos até a ocorrência da sinapse, sendo que, em seguida, a condensação se torna mais acentuada e progressiva. Assim, observa-se que do leptóteno ao paquíteno cada cromossomo exibe um padrão de regiões densas, os cromômeros, interligados por regiões menos densas.

Ainda na prófase I, a tendência de separação dos homólogos caracteriza o **diplóteno**. Essa separação não se completa, pois eles permanecem unidos em determinados pontos, os quiasmas, considerados os locais onde ocorreram permutas no paquíteno. Somente nessa subfase é que se nota cada cromossomo duplicado, com duas cromátides, apesar de a replicação ter ocorrido na intérfase. A **diacinese** corresponde ao final da prófase I e é quando os bivalentes atingem a condensação máxima. Nessa fase observa-se a terminalização dos quiasmas, que corresponde ao seu posicionamento nas extremidades do bivalente. Ainda nesse final da prófase I, se dá o desaparecimento do nucléolo e da membrana nuclear (Figura 4.11).

**Metáfase I** corresponde à etapa em que ocorre a orientação dos bivalentes na placa metafásica. Os cromossomos homólogos do bivalente ficam equidistantes do equador da célula, orientados para os pólos opostos e presos às fibras do fuso, por meio de seus

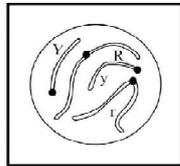
centrômeros. É importante frisar que a orientação dos bivalentes se processa ao acaso, tornando-se assim o acontecimento fundamental para a distribuição independente dos genes situados nos cromossomos não homólogos. Esta é, portanto, a base da lei da distribuição independente ou segunda Lei de Mendel (Figura 4.11).

**Anáfase I**, ao contrário do observado na anáfase mitótica, ocorre a segregação dos cromossomos homólogos duplicados para polos opostos e, em consequência, cada núcleo filho a ser formado receberá um número de cromossomos reduzido à metade. Esse acontecimento é o responsável pela formação de gametas com a metade do número de cromossomos das células somáticas.

**Telófase I**, os cromossomos homólogos chegam aos polos da célula. Essa fase difere da telófase mitótica, porque o número de cromossomos está reduzido à metade e cada cromossomo possui duas cromátides (Figura 4.11).

Após a divisão I, segue um período interfásico, a **intercinese**, que precede a divisão II. É interessante notar que a telófase I e a intercinese são fases opcionais, sendo apresentadas apenas por algumas espécies. Na intercinese, ao contrário da intérfase pré-meiótica, não ocorre a replicação de DNA, apenas síntese de RNA.

**Meiose II** - Em geral, a segunda divisão se assemelha à mitose, apenas diferindo quanto ao número de cromossomos, que já foi reduzido à metade, e também, quanto às cromátides de um cromossomo duplicado, que ficam mais separadas. Sob o ponto de vista genético, é importante visualizar a constituição dos produtos da meiose. Cada núcleo haplóide formado após a Anáfase II recebe uma das quatro cromátides de cada bivalente, resultando assim nas quatro células filhas de um meiócito, e que se diferenciarão nos gametas do milho. É interessante notar que a constituição genética desses gametas é diferente (Figura 4.11), ao contrário das células filhas de mitose.



Representação de uma célula  $2n=4$ . As letras **R** e **r** identificam um dos cromossomos e seu homólogo, e **Y** e **y** representam o outro cromossomo. No início da meiose os cromossomos já estão duplicados.

MEIOSE I

PRÓFASE I



A prófase I da meiose é dividida em cinco subfases. A primeira é a fase do filamento fino-Leptóteno.



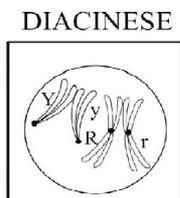
No zigóteno se inicia o pareamento dos cromossomos homólogos. Esse pareamento ocorre ponto a ponto ao longo dos cromossomos.



Os cromossomos homólogos que iniciaram o pareamento na fase anterior completam o pareamento. Eles são mantidos unidos pelo complexo sinaptonêmico, formando os bivalentes.

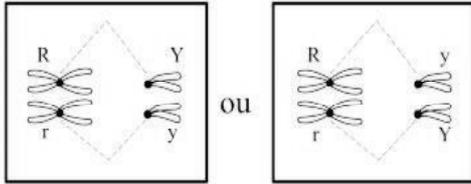


Os cromossomos pareados começam a se separar e estarão unidos apenas pelos quiasmas.



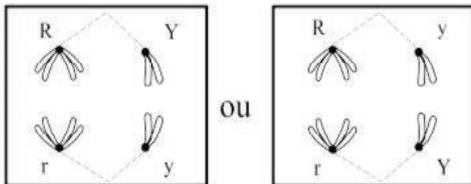
Os cromossomos estão mais condensados e ocorre a terminalização dos quiasmas.

METÁFASE I



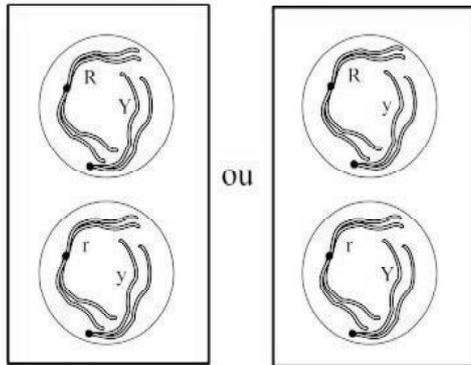
As fibras do fuso irão se prender aos cromossomos já completamente condensados. Com  $2n=4$  há duas opções de segregação. Em uma delas o cromossomo **R** irá juntar-se ao **Y** e **r** ao **y**. Na outra opção tem-se **Ry** e **rY**.

ANÁFASE I



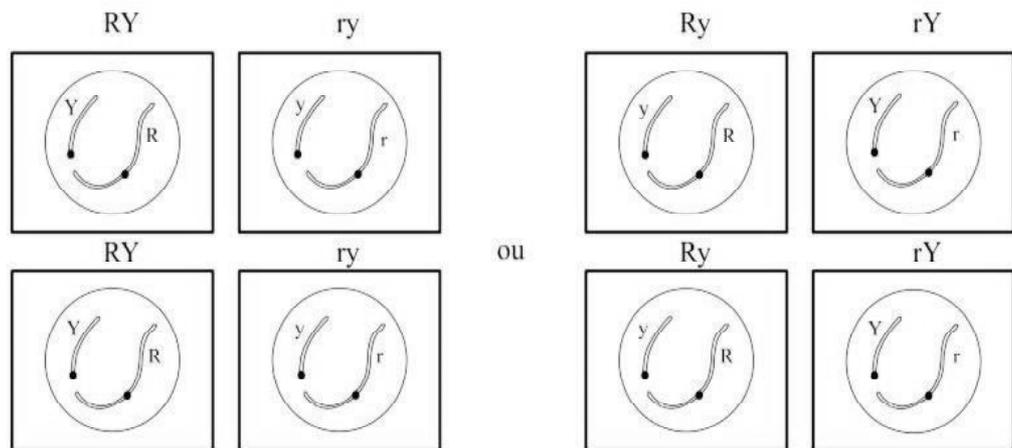
Nessa fase ocorre a segregação dos cromossomos homólogos duplicados para pólos opostos da célula.

TELÓFASE I



Dois núcleos são formados em cada uma das opções. Esses núcleos interfásicos já possuem os cromossomos duplicados.

A **MEIOSE II** é semelhante à mitose e no final do processo serão obtidas quatro células filhas.



Células filhas  $n$  de constituição **RY** e **ry**

Células filhas  $n$  de constituição **Ry** e **rY**

**FIGURA 4.11.** Meiose.

**BOX 4.2. CONSEQUÊNCIA DE IRREGULARIDADES NO PAREAMENTO DOS CROMOSSOMOS HOMÓLOGOS**

A ausência de pareamento entre os cromossomos homólogos, ou seja, a ausência da sinapse no zigóteno da prófase I da Meiose pode levar a um processo meiótico irregular resultando em esterilidade. A ocorrência de cromossomos assinápticos pode ser decorrente da falta de homologia entre eles. Por exemplo, o burro e a mula ( $2n=2x=63$ ) são híbridos interespecíficos, oriundos do cruzamento da égua (*Equus caballus*,  $2n=2x=64$ ) com o jumento (*Equus asinus*,  $2n=2x=62$ ) e normalmente são estéreis. A esterilidade ocorre pela falta de homologia dos cromossomos das duas espécies genitoras, ou seja, da assinapse entre seus cromossomos. Portanto, a Meiose é irregular não havendo a formação de gametas viáveis.

**4.5 CONSEQUÊNCIAS GENÉTICAS DA MEIOSE**

Já foi comentado que as espécies possuem o número de cromossomos constante em todas as suas células. Como durante a fertilização há união dos gametas masculino e feminino para formar a célula ovo ou zigoto, deve existir algum mecanismo para reduzir à metade o número de cromossomos das células sexuais, isso porque, em caso contrário, a cada fertilização o número de cromossomos seria duplicado. Como foi visto, é o processo meiótico que se encarrega de reduzir o número de cromossomos pela metade, permitindo que após a fertilização o número de cromossomos da espécie permaneça constante.

O processo crucial da meiose é o que ocorre durante a divisão I. A compreensão dessa fase é imprescindível para quem deseja entender o comportamento dos genes durante a reprodução. No exemplo considerado (Figura 4.11), utilizou-se uma célula mãe de constituição **RrYy**. Sabe-se que um indivíduo de genótipo RrYy produz quatro tipos de gametas - **RY**, **Ry**, **rY**, **ry** - com a mesma frequência: 25%. Quando se considera uma célula, são produzidas no final da meiose, como já mencionado, quatro células filhas, porém de apenas dois tipos, isto é, 50% **RY** e 50% **ry** ou 50% **Ry** e 50% **rY**. Então, como se explica o fato comumente mencionado de que o indivíduo **RrYy** produz quatro tipos de gametas? Existe alguma incorreção em alguns desses dois princípios que foram comentados? À primeira vista, pode-se imaginar que há alguma incorreção, mas na realidade isso não acontece. Quando se considera uma única célula, são produzidos apenas dois tipos de gametas. Porém, em um indivíduo, o número de células que sofrem meiose é muito grande, e então espera-se que em 50% dos casos ocorra o caminhar dos alelos **RY** para um pólo e **ry** para outro; nos outros 50% as combinações são **Ry** e **rY**. Dessa forma, estando envolvido um grande número de células, irão ocorrer 25% de cada um dos tipos esperados - **RY**, **Ry**, **rY**, **ry**.

Se a constituição genotípica do indivíduo fosse **RrYyDd** e admitindo-se que cada gene esteja em um cromossomo diferente, isto é,  $2n = 6$ , seriam esperados oito gametas diferentes com a frequência de 12,5% de cada um. Contudo, para cada célula mãe individualmente, só seriam produzidos dois tipos de gametas **RYD** e **ryd** ou **RYd** e **ryD** ou **RyD** e **rYd** ou **Ryd** e **rYD**, na frequência de 50% em cada situação. Porém, quando se considera um grande número de células, ocorrem todas as combinações possíveis. É importante lembrar que todas as combinações ocorrem com a mesma frequência porque a orientação de cada bivalente é aleatória. Assim, todas as orientações metafásicas também ocorrem com a mesma frequência. O entendimento do comportamento dos cromossomos durante a metáfase I é fundamental para se entender esses fatos discutidos anteriormente. Na metáfase I, ocorre a orientação dos cromossomos homólogos, isto é, se o cromossomo contendo o alelo **R** está orientado para um polo, o cromossomo homólogo contendo o **r**, evidentemente, só poderá estar orientado para o polo oposto. O mesmo fato é válido para os cromossomos contendo o alelo **Y** e **y**. Assim, com  $2n = 4$  cromossomos, são possíveis duas orientações e com  $2n = 6$  cromossomos, são possíveis quatro orientações na metáfase. O número de orientações metafásicas possíveis é fornecido pela expressão  $2^{n-1}$ , em que **n** representa o número de pares de cromossomos. Assim, com o aumento do número de cromossomos, o número de orientações metafásicas é incrementado rapidamente. No milho, por exemplo, com  $2n = 20$  cromossomos, são esperadas  $2^9$  orientações metafásicas diferentes.

Essas observações permitem-nos fazer uma constatação de enorme importância para a genética. Durante a metáfase I, há um verdadeiro embaralhamento - recombinação - dos genes, de modo que são obtidas inúmeras combinações novas. Voltemos ao exemplo do milho com  $2n = 20$  cromossomos. Se um indivíduo for portador de dez genes, cada um deles situado em um cromossomo diferente e representado por dois alelos - heterozigoto -, serão observadas  $2^9$  orientações diferentes na metáfase, que irão propiciar o aparecimento de  $2^{10}$  gametas com diferentes constituições genéticas. Assim, a meiose permite a recombinação dos genes - aparecimento de combinações novas não existentes nos genitores -, o que evidentemente contribui para ampliar a variabilidade na natureza. Essa ampliação da variabilidade é fundamental para a evolução das espécies e também é a principal matéria-prima para os melhoristas de plantas e animais.

Além de tudo o que foi comentado, é possível fazer mais uma constatação. A probabilidade de que um indivíduo seja heterozigoto para um grande número de genes, e produza um gameta idêntico ao que lhe deu origem é muito pequena, na realidade, se for considerada permuta genética, essa probabilidade é praticamente nula. Vejamos qual a probabilidade de que um touro de excepcional qualidade produza um espermatozóide idêntico ao que lhe deu origem. O número de cromossomos dos bovinos é  $2n = 60$  (Quadro 4.1), ou seja, 30 cromossomos vieram do pai e 30 da mãe; portanto, serão formadas na metáfase  $2^{29}$

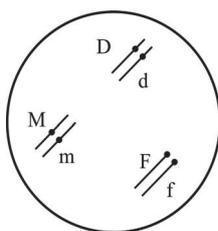
## Genética na Agropecuária

orientações diferentes, provenientes das combinações dos cromossomos de origem materna e paterna, e que darão no final da meiose  $2^{30}$  gametas. Desses gametas, apenas um terá todos os cromossomos que o touro recebeu do seu pai. Assim, a probabilidade de o espermatozóide do touro ser idêntico ao que lhe deu origem é de  $1/2^{30}$ . Comentários adicionais sobre esse aspecto serão novamente apresentados no Capítulo 7.

Embora a divisão meiótica seja um processo preciso, é possível ocorrer algumas anormalidades que podem resultar na esterilidade total ou parcial do indivíduo. Essas anormalidades ocorrem em razão de problemas durante o pareamento e a distribuição dos cromossomos homólogos. Essas situações serão estudadas no Capítulo 14.

### PROBLEMAS PROPOSTOS

1. O eucalipto é uma espécie que pode ser multiplicada assexuada e sexuadamente. Qual a diferença entre esses dois processos em termos práticos? Justifique sua resposta.
2. Por que a meiose é importante para a genética e o melhoramento de plantas e animais?
3. Sessenta células de um vegetal com a constituição representada a seguir sofrem meiose:



A partir dessas células, pergunta-se:

- a) Qual o número de orientações possíveis na metáfase I?
  - b) Quantas células são esperadas apresentando uma mesma orientação?
  - c) Quantos grãos de pólen são esperados apresentando a constituição MDF?
  - d) Quantos tipos de grãos de pólen diferentes são esperados?
4. O alho (*Allium sativum* L.) é uma espécie que só se reproduz por via assexuada. Que implicação biológica tem esse fato?
  5. Um citologista, estudando a meiose de uma dada espécie, identificou 2.048 orientações diferentes na metáfase I.
    - a) Qual o provável número de cromossomos no genoma dessa espécie?
    - b) Desconsiderando a ocorrência de permuta genética, qual o número esperado de gametas diferentes?
  6. Em citricultura, é comum enxertar-se borbolha de uma planta-matriz de boa qualidade em um “cavalo” de limão-cravo. Por que a planta obtida continua produzindo frutos só de boa qualidade como os da planta-matriz?
  7. Um criador de suínos comprou um reprodutor da raça Duroc de excelente qualidade e deseja que ele produza espermatozóides idênticos ao que lhe originou.
    - a) Qual a probabilidade de que esse fato ocorra?
    - b) Qual é a probabilidade de um de seus espermatozóides apresentar 10 cromossomos provenientes do gameta que lhe deu origem?

Desconsidere a ocorrência de permuta genética e lembre-se de que em suínos  $2n = 38$ .

Genética na Agropecuária

8. O burro é um excelente animal de tração, sendo um híbrido interespecífico entre o jumento (*Equus asinus*,  $2n = 62$ ) e a égua (*Equus caballus*,  $2n = 64$ ). Apesar do seu vigor físico, ele não produz descendentes. Sugira algumas explicações sob o ponto de vista citológico para a sua esterilidade.

# 5 MENDELISMO

## 5.1 INTRODUÇÃO

O termo **controle genético monogênica** é utilizado por alguns geneticistas para os casos em que os genitores diferem em somente uma característica, controlada por um gene; outros, em contrapartida, têm utilizado esse termo para qualquer cruzamento em que somente uma característica controlada por um gene está sendo considerada, não interessando se os genitores diferem em outros caracteres. Aqui será utilizado o termo nesse último sentido.

Como é determinado o controle genético de um caráter? Para responder a essa pergunta, serão utilizados basicamente os mesmos procedimentos empregados por Mendel no estabelecimento dos princípios do controle genético.

## 5.2 ETAPAS NO ESTUDO DO CONTROLE GENÉTICO DE UM CARÁTER

### 5.2.1 Escolha do Material

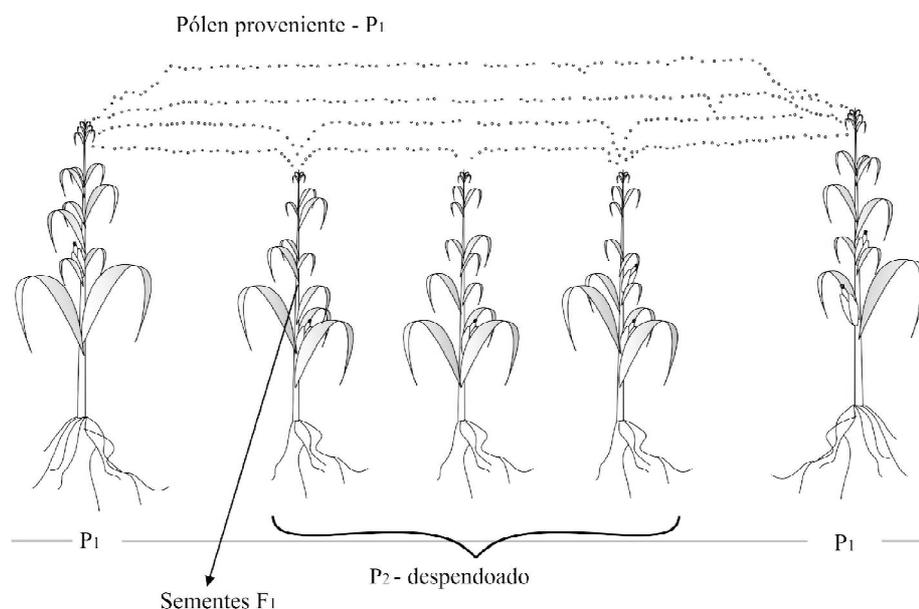
Na determinação do controle genético, é necessário que o caráter considerado apresente expressões contrastantes ou formas alternativas, isto é, que **exista variabilidade**. Como exemplo, será considerada a determinação do controle genético da textura das sementes do milho. A textura da semente do milho pode ser lisa - milho normal - ou enrugada - milho doce. Então, para se estudar o controle genético desse caráter o primeiro passo é a obtenção de indivíduos contendo esses dois tipos de sementes.

### 5.2.2 Condução do experimento

Uma vez obtido um genitor com sementes lisas e o outro com sementes enrugadas, a próxima etapa será determinar se eles são puros para a característica considerada. Por meio da forma de polinização da espécie, ou seja, pode-se saber se ela é predominantemente de autofecundação - **autógama** - ou de polinização cruzada - **alógama** - é possível inferir se os genitores são puros ou não. O milho é uma planta de polinização cruzada. Nesse caso, para verificar se os genitores são puros, o geneticista pode escolher entre autofecundar as plantas ou plantá-las em lotes isolados. A **autofecundação** consiste na fecundação da planta com o seu próprio pólen. No caso do milho, esta operação é facilmente realizada, coletando-se os

grãos de pólen no pendão - inflorescência masculina - e colocando-os na espiga - boneca ou inflorescência feminina - da mesma planta. O lote isolado consiste no plantio de cada um dos genitores em um local que dista de qualquer cultura de milho em pelo menos 200 m e deixar que as plantas inter cruzem-se naturalmente. Para certificar se os genitores são puros, basta utilizar um desses métodos e observar a descendência. Se nas sementes provenientes do genitor de sementes enrugadas não ocorrer nenhuma lisa ou vice-versa, é porque eles não segregam e, portanto, são puros.

De posse dos genitores puros, deve-se obter a primeira geração filial - **geração  $F_1$** . Para isto, é necessário realizar o cruzamento entre os dois genitores. Em se tratando da cultura do milho, o cruzamento pode ser realizado artificialmente planta a planta, tomando-se o pólen de um dos genitores e colocando-o na boneca do outro genitor. Pode-se também trabalhar com lotes isolados. Essa última opção é muito mais fácil e amplamente utilizada. Nesse caso, deve-se semear em lote isolado, linhas de ambos os genitores. Pode-se semear, por exemplo, 5 linhas de 10 m de cada um. Nas linhas laterais, semeia-se o genitor com sementes lisas e nas três centrais o de sementes enrugadas (Figura 5.1). Quando o milho começar a florescer, procede-se ao despendoamento - emasculação - nas linhas do genitor de sementes enrugadas. Essa operação consiste na retirada da inflorescência masculina, antes que as anteras entrem em deiscência. Isso é facilmente realizado puxando-se a inflorescência masculina no sentido vertical, pois ela se desprende inteiramente, com facilidade. Assim, quando da polinização, as bonecas das linhas centrais - genitor de sementes enrugadas -



**FIGURA 5.1.** Esquema do cruzamento de dois genitores ( $P_1$  e  $P_2$ ) de milho em campo isolado,  $P_1$  - genitor de sementes lisas, e  $P_2$  - genitor de sementes enrugadas.

recebem pólen das linhas laterais - genitor de sementes lisas. As sementes das linhas centrais, provenientes do cruzamento, constituem a primeira geração filial -  $F_1$ . A textura dessas sementes deve ser anotada. No caso considerado, todas as sementes da geração  $F_1$  apresentam textura lisa.

Resta agora a obtenção da **geração  $F_2$**  - segunda geração filial. Existem duas opções: a primeira as sementes da geração  $F_1$  devem ser semeadas em lotes isolados e as plantas  $F_1$  intercruzem-se livremente. A segunda as plantas da geração  $F_1$  podem ser autofecundadas artificialmente. Em realidade, a única geração em que a autofecundação e o intercruzamento fornecem o mesmo resultado é na  $F_1$ . Todas as sementes obtidas pertencerão à geração  $F_2$  (Figura 5.2). Pode-se também obter os **retrocruzamentos - RC-**, ou seja, o cruzamento da geração  $F_1$  com os genitores. A geração  $RC_1$  será o resultado do cruzamento da geração  $F_1$  com o genitor de sementes lisas -  $P_1$  -, e a  $RC_2$ , da geração  $F_1$  com o genitor de sementes enrugadas -  $P_2$ .



**FIGURA 5.2.** Espiga de milho mostrando a segregação de sementes lisas e enrugadas na geração  $F_2$ .

### 5.2.3 Proposição e teste da hipótese do controle genético do caráter

O próximo passo consiste na avaliação das segregações obtidas nas gerações  $F_2$  e em um dos retrocruzamentos, no caso o  $RC_2$ . Nas espigas provenientes das gerações segregantes -  $F_2$  e  $RC_2$  -, as sementes lisas e enrugadas devem ser contadas e os dados devem ser tabulados e apresentados como na Tabela 5.1.

**TABELA 5.1.** Segregações obtidas no estudo do caráter textura da semente do milho.

Gerações	Fenótipos das sementes	
	Lisas	Enrugadas
$P_1$	460	-
$P_2$	-	380
$F_1$	520	-
$F_2$	365	115
$RC_1$	450	-
$RC_2$	185	189

Na interpretação dos resultados da Tabela 5.1, deve-se lembrar de que sendo os genitores puros não haverá segregação na geração  $F_1$ . Como vimos, a geração  $F_1$  apresentou a mesma textura da semente do  $P_1$ , semente lisa. Na geração  $F_2$ , houve segregação que se aproxima de uma relação de 3 sementes lisas: 1 semente enrugada; o  $RC_2$  segregou numa proporção de 1 lisa:1 enrugada. O próximo passo é testar estas hipóteses de segregação. Isto é, mostrar que a geração  $F_2$ , por exemplo, segregou nas proporções de 3:1. Para isso, deve-se empregar um teste estatístico. Nesse caso, é utilizado o teste de Qui-quadrado ( $\chi^2$ ). Para a aplicação desse teste procede-se da maneira descrita no Capítulo 7, utilizando-se a expressão:

$$\chi^2 = \sum \frac{(\text{Frequência observada} - \text{Frequência esperada})^2}{\text{Frequência esperada}}$$

Para facilitar a estimativa do  $\chi^2$ , é conveniente utilizar a Tabela 5.2.

**TABELA 5.2.** Estimativa do  $\chi^2$  para testar a hipótese de segregação 3 sementes lisas:1 semente enrugada na geração  $F_2$ .

Fenótipo da geração $F_2$	Frequência observada (FO)	Frequência esperada (FE)	Desvio (FO-FE)	Desvio <sup>2</sup> (FO-FE) <sup>2</sup>	(Desvio) <sup>2</sup> /FE
Semente lisa	365	360	5	25	0,07
Semente enrugada	115	120	-5	25	0,21
Total	480	480			$\chi_c^2 = 0,28$

Nessa tabela, a frequência esperada é estimada dividindo-se o total observado por 4 (3 + 1). Dessa forma,  $480/4 = 120$ , que corresponde à frequência esperada das sementes enrugadas, e  $120 \times 3 = 360$  é a frequência esperada das sementes lisas. Depois, basta seguir o que está indicado no quadro, obtendo no final a estimativa do  $\chi_c^2$ . Essa estimativa deve ser testada e para isso é utilizada a tabela de  $\chi^2$  (Tabela 7.8 Cap.7). Essa tabela exige o nível de probabilidade ( $\alpha$ ) e o grau de liberdade (GL), sendo o GL correspondente ao número de classes fenotípicas possíveis menos um. Isso porque se existem dois fenótipos e um número fixados de grãos da  $F_2$ , apenas o número de um dos fenótipos é variável o outro é encontrado por diferença. Ao nível de 5% de probabilidade, que é comumente utilizado pelos geneticistas, e com grau de liberdade de 1 (2 classes fenotípicas - 1) a tabela nos dá  $\chi^2 = 3,84$ . Como o valor de  $\chi_c^2$  obtido é menor que o tabelado, dizemos que o  $\chi_c^2$  é não significativo e que, portanto, aceitamos a hipótese formulada, isto é, a frequência observada se ajusta a uma frequência esperada, considerando uma segregação de 3:1. De modo idêntico, pode-se testar a frequência observada no retrocruzamento - $RC_2$  -, sabendo-se que nesse caso a frequência observada se ajusta à segregação de 1:1. A próxima etapa consiste em explicar esses resultados geneticamente.

### 5.2.4 Interpretação Genética dos Resultados Obtidos

Por que razão na geração  $F_1$  só se manifesta um fenótipo? Qual a causa da segregação 3:1 na geração  $F_2$ ? Isso pode ser explicado conhecendo-se, sobretudo, o comportamento dos cromossomos durante a meiose para a formação dos gametas (Capítulo 4). Senão, vejamos: o milho é uma espécie diplóide, ou seja, tem os seus cromossomos organizados aos pares. Além disso, sabemos que a expressão fenotípica dos caracteres é controlada pelos **genes**, que podem apresentar algumas formas alternativas denominadas **alelos**. No presente caso, suponha um gene condicionando o aspecto das sementes e representado por dois alelos. Um condiciona sementes lisas - **Su** - e o outro condiciona as sementes enrugadas - **su**. Pelo exposto, uma planta pura - **homozigótica** - para sementes lisas deve apresentar a constituição genética **Su Su**, e as de sementes enrugadas, **su su**. Quando da formação dos gametas, as células haplóides obtidas apresentarão apenas um dos alelos de cada par, isto é, o gameta produzido pelo genitor  $P_1$  (sementes lisas) possuirá apenas o alelo **Su**. Por sua vez, o gameta produzido pelo  $P_2$  terá apenas a constituição **su**. Pela união desses gametas durante a fertilização, será obtido novamente um indivíduo diplóide **heterozigótico**, que terá um dos alelos do  $P_1$  e o outro do  $P_2$ , portanto com constituição genética **Su su**. Considerando que o alelo para sementes lisas - **Su** - **domina** o alelo para sementes enrugadas - **su** -, pode-se explicar a ocorrência de apenas um fenótipo na geração  $F_1$ .

As plantas  $F_1$  deverão obviamente produzir dois tipos de gametas, um contendo o alelo **Su** e o outro, o alelo **su**. Em razão do comportamento dos cromossomos durante a meiose, pode-se esperar que 50% dos gametas conterão o alelo **Su** e os outros 50%, o alelo **su**. Durante a fertilização, ocorre a união ao acaso desses gametas, e o resultado pode ser visualizado na Tabela 5.3.

As **proporções genotípicas** esperadas na  $F_2$  serão, portanto, de  $1/4 \text{ Su Su} : 1/2 \text{ Su su} : 1/4 \text{ su su}$ . Como os genótipos **Su Su** e **Su su** conferem o mesmo **fenótipo**, pode-se esperar na geração  $F_2$  que  $3/4$  das sementes serão lisas e  $1/4$  enrugadas, isto é, as **proporções fenotípicas** de 3:1, como foi observada pelos dados de campo (Tabela 5.4). Pode-se dizer que uma segregação fenotípica de 3:1 na geração  $F_2$  indica genotipicamente que a característica, cujo controle genético está sendo estudado, é controlada por um gene com

**TABELA 5.3.** Gametas produzidos pelas plantas  $F_1$  e a respectiva constituição genética da  $F_2$  proveniente da união aleatória dos gametas durante a fertilização.

Gametas masculinos	Gametas femininos	
	$\frac{1}{2} \text{ Su}$	$\frac{1}{2} \text{ su}$
$\frac{1}{2} \text{ Su}$	$\frac{1}{4} \text{ Su Su}$	$\frac{1}{4} \text{ Su su}$
$\frac{1}{2} \text{ su}$	$\frac{1}{4} \text{ Su su}$	$\frac{1}{4} \text{ su su}$

dois alelos, havendo dominância de um alelo sobre o outro. Utilizando-se o mesmo raciocínio pode-se explicar o resultado observado no RC<sub>2</sub>.

Os resultados dos dois retrocruzamentos (Tabela 5.5) servem para confirmar essa hipótese genética, de que nesse caso está envolvido apenas um gene com dois alelos. Conclui-se também que na reprodução das plantas heterozigóticas da geração F<sub>1</sub> são produzidos dois

**TABELA 5.4.** Proporções fenotípicas e as respectivas constituições genéticas das plantas para o caráter textura da semente do milho nos genitores e nas gerações F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub>.

<b>Genitores:</b>	<b>P<sub>1</sub></b>	<b>x</b>	<b>P<sub>2</sub></b>
Fenótipos:	Semente lisa		Semente enrugada
Genótipos:	Su Su		su su
Gametas:	<b>Su</b>		<b>su</b>
<b>Primeira geração filial:</b>		<b>F<sub>1</sub></b>	
Fenótipo:		100% semente lisa	
Genótipo:		Su su	
Gametas:		$\frac{1}{2}$ <b>Su</b> : $\frac{1}{2}$ <b>su</b>	
<b>Segunda geração filial:</b>		<b>F<sub>2</sub></b>	
Fenótipos:		$\frac{3}{4}$ sementes lisas : $\frac{1}{4}$ sementes enrugadas	
Genótipos:		$\frac{1}{4}$ Su Su : $\frac{1}{2}$ Su su : $\frac{1}{4}$ su su	
Gametas:		$\frac{1}{2}$ <b>Su</b> : $\frac{1}{2}$ <b>su</b>	

**TABELA 5.5.** Representação dos resultados dos cruzamentos que explicam as segregações obtidas nos retrocruzamentos, considerando o caráter controlado por um gene com dois alelos.

	<b>P<sub>1</sub></b>	<b>x</b>	<b>F<sub>1</sub></b>	<b>P<sub>2</sub></b>	<b>x</b>	<b>F<sub>1</sub></b>
Fenótipos:	Semente lisa		Semente lisa	Semente enrugada		Semente lisa
Genótipos:	Su Su		Su su	su su		Su su
Gametas:	<b>Su</b>		$\frac{1}{2}$ <b>Su</b> e $\frac{1}{2}$ <b>su</b>	<b>su</b>		$\frac{1}{2}$ <b>Su</b> e $\frac{1}{2}$ <b>su</b>
Retrocruzamentos:		<b>RC<sub>1</sub></b>			<b>RC<sub>2</sub></b>	
Fenótipos:		Sementes lisas			$\frac{1}{2}$ sementes enrugadas e $\frac{1}{2}$ sementes lisas	
Genótipos:		$\frac{1}{2}$ Su Su e $\frac{1}{2}$ Su su			$\frac{1}{2}$ su su e $\frac{1}{2}$ Su su	

gametas distintos na mesma proporção, que é o fundamento da **primeira Lei de Mendel**, ou seja: “Os dois alelos de um gene **segregam** (separam) um do outro durante a formação das células sexuais, de modo que metade dos gametas carrega um dos alelos e a outra metade carrega o outro alelo”.

### 5.3 CONCEITOS COMUMENTE UTILIZADOS PELOS GENETICISTAS

Deve-se salientar que existem muitos termos utilizados pelos geneticistas que precisam ser bem entendidos. Os primeiros conceitos que devem ficar bem claros são os de **gene** e **alelos**. Esses termos foram criados em 1909 por Johannsen, um pesquisador dinamarquês. **Gene** é originado da palavra grega **genesis**, que significa origem, e está de acordo com a etimologia da palavra, uma vez que ele representa a origem primária dos caracteres. Nesse ponto, pode-se conceituar gene como sendo um segmento de DNA, situado numa posição específica de um determinado cromossomo (**loco**) e que participa da manifestação fenotípica de um certo caráter. **Alelos** são formas alternativas de um mesmo gene que ocupam o mesmo loco em cromossomos homólogos e que afetam evidentemente a mesma característica, porém de modo diferente. O uso dos dois termos frequentemente causa equívoco. Para uma melhor compreensão, voltemos ao exemplo da textura da semente de milho. Essa é uma característica controlada por um gene que está representado de duas formas alternativas, **Su** e **su**. Assim sendo, um indivíduo puro **Su Su** é portador de alelos **Su** iguais e não de genes **Su** iguais. Um outro modo de expressar seria dizer que o indivíduo **Su Su** possui dois alelos iguais do mesmo gene.

Os genes são simbolizados, de modo geral, por letras do alfabeto romano ou por abreviações das designações dadas aos fenótipos do carácter normalmente da língua do país onde foi feita a descoberta do alelo mutante. Geralmente, o alelo recessivo de um gene é simbolizado por letra minúscula, enquanto a letra maiúscula indica o alelo dominante. O importante é que os alelos devem ser sempre representados pela mesma letra. No caso do gene responsável pela textura das sementes do milho, foi utilizado o símbolo **Su** para sementes lisas. Este símbolo é derivado da palavra **sugary** (açucarado), já que o mutante foi identificado nos Estados Unidos. Quando existem mais de dois alelos (Capítulo 8), usa-se a mesma letra, com um expoente, que pode ser número, letras ou abreviação que lembram o fenótipo, para diferenciá-los.

Um outro termo comumente utilizado é **genótipo**. Ele é definido como a constituição genética de um indivíduo. Se a espécie é diplóide, o genótipo contém dois alelos de cada gene, podendo ser **homozigótico**, quando eles são iguais - **SuSu** e **susu** -, ou **heterozigótico**, quando os alelos são diferentes - **Susu**. Diferentes genótipos podem dar origem ao mesmo fenótipo, dependendo ou não da ocorrência da interação alélica de **dominância completa**. Assim, **SuSu** e **Susu**, por exemplo, são genótipos diferentes, porém as sementes apresentam o mesmo fenótipo, isto é, são lisas. Pode-se dizer que os **fenótipos** são as formas alternativas

de expressão de uma característica. Na realidade, como será visto posteriormente, a manifestação fenotípica depende não só do genótipo mas também do ambiente.

As células sexuais de um determinado indivíduo recebem a denominação de **gametas**. No caso do genótipo **Su su**, são produzidos dois gametas diferentes, um contendo o alelo **Su** e o outro, o alelo **su**. A união aleatória desses gametas durante a fertilização é que produz as segregações genotípicas características das gerações  $F_2$  e de um dos retrocruzamentos.

A segregação dos gametas, que é a expressão da Primeira Lei de Mendel, pode ser comprovada facilmente. Isso ocorre quando é possível constatar as proporções de 1:1 nos próprios gametas. Um dos exemplos refere-se à coloração dos grãos de pólen do milho que carregam o alelo **Wx** ou o alelo **wx**. Quando o indivíduo é homocigótico **WxWx**, o grão de pólen é **Wx** e possui amilose e amilopectina. Assim sendo, se tratarmos esse pólen com solução de iodo, ele colore-se de azul. Nos indivíduos de genótipo **wxwx** o pólen é **wx** e não chega a formar a amilose, pois possui 100% de amilopectina, que se cora de vermelho. Um indivíduo heterocigótico **Wxwx** produz dois tipos de grãos de pólen, aqueles com o alelo **Wx**, que são azuis após a coloração com iodo, e os **wx**, que serão vermelhos. Se for contado o número de grãos de pólen de uma planta heterocigótica **Wxwx**, serão encontrados 50% de cada tipo, mostrando que os gametas segregam como previsto na Primeira Lei de Mendel.

O modo mais utilizado para verificar se a segregação está ocorrendo é, porém, por meio do **cruzamento teste**, ou seja, o cruzamento do indivíduo supostamente heterocigótico, no exemplo indivíduos da geração  $F_1$  com o genitor que possui alelos recessivos. Isto é, o cruzamento teste é, neste exemplo, um retrocruzamento. Na Tabela 5.5, está ilustrado um cruzamento teste; observe que, devido ao  $P_2$  ser homocigótico para o alelo recessivo, o fenótipo da descendência do cruzamento teste depende apenas da expressão dos alelos presentes nos gametas do indivíduo heterocigótico da geração  $F_1$ . No caso, as proporções esperadas no cruzamento teste são de 1:1, em razão da segregação dos gametas, contendo os alelos **Su** e **su** durante a meiose, ocorrer nestas proporções.

## 5.4 ESTUDO DO CONTROLE GENÉTICO EM ANIMAIS

Um outro aspecto que deve ser comentado diz respeito ao estudo do controle genético dos caracteres em animais. Nesse caso, por não ser possível realizar a autofecundação, certificar que um animal é puro-homocigótico-, complica um pouco mais. Porém, se no acasalamento entre irmãos, por exemplo, não ocorrer segregação é porque os animais em questão devem ser puros para o caráter considerado. Quando se deseja conhecer o controle genético de um caráter, em uma espécie cuja descendência é numerosa e que também seja

possível várias gerações por ano, praticamente não há diferença do procedimento adotado para a cultura do milho, comentado anteriormente. Esse fato pode ser comprovado na Figura 5.3, em que é apresentado o estudo do controle genético do caráter cor da pelagem de coelhos.

	<b>P<sub>1</sub></b>		<b>P<sub>2</sub></b>
	Albino	X	Aguti
	cc		CC
		<b>F<sub>1</sub></b>	
		Aguti	
		Cc	
<b>F<sub>2</sub></b>	Albino		Aguti
	38		126
	cc		C__

**FIGURA 5.3.** Resultados do estudo da herança da cor da pelagem em coelhos. Como se observa, as proporções fenotípicas na geração F<sub>2</sub> se ajustou as proporções de 3:1 ( $\chi^2$  calculado = 0,29 NS), indicando que o caráter é controlado por um gene (C) com dois alelos, o dominante C que confere a cor aguti e o recessivo c a cor albino.

Vale ressaltar que uma coelha pode ter até oito partos por ano em média com oito lâparos (filhotes) por parto, o que possibilita obter uma descendência numerosa, facilitando o estudo da herança de qualquer caráter nessa espécie.

Especialmente para aquelas espécies cuja descendência não é numerosa, e a geração é mais longa, o controle genético de um caráter pode ser realizado por meio do estudo da genealogia. Na elaboração da **genealogia**, também denominada de **pedigree**, **heredograma** ou **árvore genealógica**, normalmente são utilizados os símbolos apresentados na Figura 5.4. Na Figura 5.5, é mostrado um exemplo de pedigree de uma família de cães com atrofia progressiva da retina. É uma doença ocular de origem hereditária que se caracteriza pela degeneração irreversível da camada retinal fotoreceptora do olho, causando cegueira em muitas raças. O gene que controla esta doença é o **RDS**. Observando o pedigree, é fácil inferir que o caráter é controlado por um gene e que o alelo recessivo confere a enfermidade. Veja também que o macho da geração III só pode apresentar a doença porque seus pais eram heterozigóticos. Esse macho, da geração III, foi cruzado com 15 fêmeas normais, porém a maioria delas deve ser heterozigótica dada a grande frequência de animais afetados na descendência.

Genética na Agropecuária

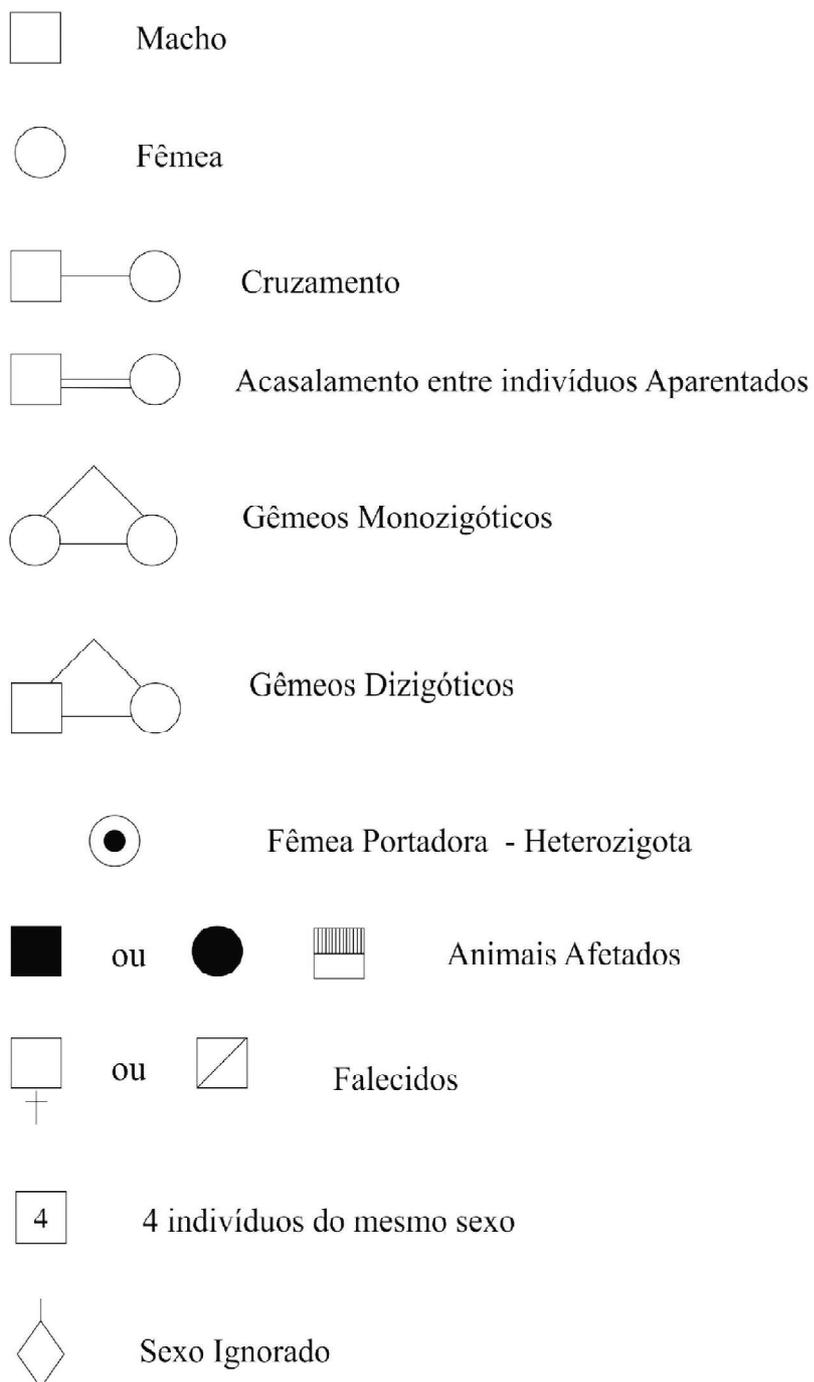
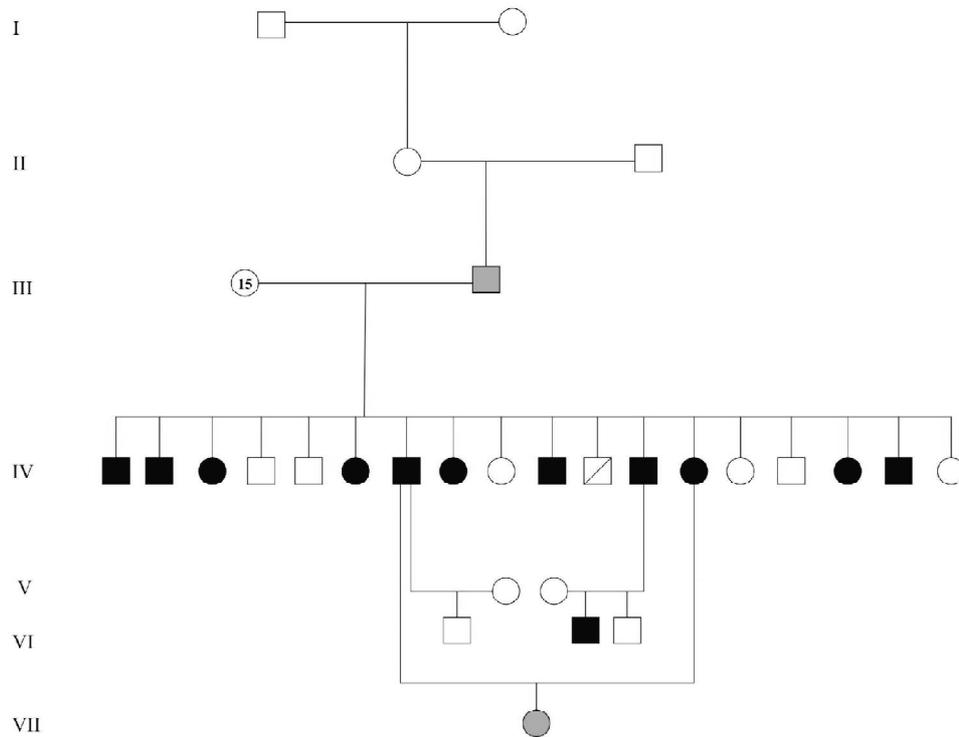


FIGURA 5.4. Símbolos mais usados em heredogramas.



**FIGURA 5.5.** Pedigree (árvore genealógica) de uma família de cães com atrofia progressiva da retina.

### 5.5 LEI DA DISTRIBUIÇÃO INDEPENDENTE

O que foi descrito anteriormente envolvia uma característica controlada por um gene com dois alelos. Agora será estudado o que ocorre quando estão envolvidas duas características distintas, cada uma controlada por um gene com dois alelos. Para exemplificar, será utilizada novamente a cultura do milho e duas características da semente. A primeira característica refere-se à textura da semente que, como já foi visto, pode ser lisa ou enrugada. A segunda característica é a cor do endosperma da semente que pode ser branco ou amarelo. Essa característica também é controlada por um gene com dois alelos, havendo dominância do alelo **Y**, que condiciona sementes amarelas e que domina o de sementes brancas, **y**.

Utilizando os mesmos procedimentos já descritos, foi realizado o cruzamento de plantas homocigóticas provenientes de sementes lisas e amarelas com plantas oriundas de sementes brancas e enrugadas e foram produzidos os resultados da Tabela 5.6.

Os dados obtidos na geração  $F_1$  mostraram que o alelo que condiciona semente amarela domina o que condiciona semente branca; o mesmo ocorre no caso do alelo de semente lisa que domina o de enrugada. Considerando cada caráter isoladamente, observa-se que na geração  $F_2$  ocorreu a segregação de 3:1 em cada caso, pois foram obtidas 354 sementes

amarelas para 126 sementes brancas e 365 sementes lisas para 115 sementes enrugadas. Sendo assim, para cada caráter analisado isoladamente, o fenômeno de segregação ocorreu, como já foi visto nos tópicos anteriores.

**TABELA 5.6.** Fenótipos dos genitores e das gerações  $F_1$  e  $F_2$  provenientes do cruzamento de plantas de milho homocigóticas e contrastantes para a cor e textura das sementes.

Gerações	Fenótipo das sementes			
	Amarelo liso	Amarelo enrugado	Branco liso	Branco Enrugado
$P_1$	100%	-	-	-
$P_2$	-	-	-	100%
$F_1$	100%	-	-	-
$F_2$	268	86	97	29

Considerando as duas características em conjunto, a segregação da geração  $F_2$  obtida segue as proporções de 9:3:3:1. Essa segregação da geração  $F_2$  é, na realidade, o produto das segregações 3:1 de cada uma das características, isto é, (3 Amarelas : 1 Branca) (3 Lisas : 1 Enrugada) = 9 Amarelas Lisas : 3 Amarelas Enrugadas : 3 Brancas Lisas : 1 Branca Enrugada. Isso está de acordo com a **Lei do Produto de Probabilidades** que diz: “a probabilidade de que dois ou mais eventos independentes ocorram juntos é o produto das probabilidades de suas ocorrências em separado”. Vale ressaltar que na geração  $F_2$ , os fenótipos da textura da semente se combinaram ao acaso, com os fenótipos da cor.

Como se pode observar, as proporções fenotípicas da geração  $F_2$  (268 sementes amarelas lisas; 86 sementes amarelas enrugadas; 97 sementes brancas lisas; 29 sementes brancas enrugadas) estão de acordo com as esperadas baseada na distribuição independente -  $\chi_c^2 = 0,77NS$ .

Como as proporções fenotípicas obtidas concordam com a lei do produto das probabilidades, podemos concluir que isso só é possível se a herança das duas características for independente, isto é, se o comportamento dos alelos que condicionam a cor da semente for completamente independente dos alelos responsáveis pela textura da semente.

A lei do produto de probabilidades também é válida para as proporções genotípicas da geração  $F_2$ , isto é:  $\frac{1}{4}SuSu \cdot \frac{1}{4}YY = \frac{1}{16}SuSuYY$ . O mesmo é válido para as demais combinações genotípicas.

O ponto fundamental da distribuição independente é a produção de quatro tipos de gametas em proporções iguais (Tabela 5.7). Para a obtenção da geração  $F_2$ , os indivíduos da geração  $F_1$  serão autofecundados, ou serão intercruzados livremente, como já foi mostrado anteriormente. Como todos os indivíduos da geração  $F_1$  apresentam o mesmo genótipo

- **SusuYy** -, os gametas produzidos tanto no pólen como no óvulo serão iguais; dessa forma a obtenção da geração  $F_2$  consiste apenas na combinação destes quatro tipos de gametas dois a dois - masculinos com femininos - em todas as possibilidades. Isso pode ser feito por meio do quadro de Punnett, também denominado **Xadrez Mendeliano** (Figura 5.6). Note que as proporções fenotípicas 9:3:3:1 são resultantes da soma de todas as classes genotípicas que apresentam o mesmo fenótipo.

**TABELA 5.7.** Proporções fenotípicas e respectivas constituições genéticas para os caracteres textura e cor das sementes do milho nos genitores e geração  $F_1$ .

Genitores:	$P_1$	x	$P_2$
Fenótipos:	Sementes amarelas lisas		Sementes brancas enrugadas
Genótipos:	SuSu YY		susu yy
Gametas:	<b>Su Y</b>		<b>su y</b>
1ª Geração filial:	$F_1$		
Fenótipo:	Sementes lisas amarelas		
Genótipo:	Susu Yy		
Gametas:	$\frac{1}{4}$ Su Y; $\frac{1}{4}$ Su y; $\frac{1}{4}$ su Y; $\frac{1}{4}$ su y		

$\begin{matrix} \text{♀} & \text{♂} \\ \text{♀} & \end{matrix}$	$\frac{1}{4}$ Su Y	$\frac{1}{4}$ Su y	$\frac{1}{4}$ su Y	$\frac{1}{4}$ su y
$\frac{1}{4}$ Su Y	1/16 SuSu YY	1/16 SuSu Yy	1/16 Susu YY	1/16 Susu Yy
$\frac{1}{4}$ Su y	1/16 SuSu Yy	1/16 SuSu yy	1/16 Susu Yy	1/16 Susu yy
$\frac{1}{4}$ su Y	1/16 Susu YY	1/16 Susu Yy	1/16 susu YY	1/16 susu Yy
$\frac{1}{4}$ su y	1/16 Susu Yy	1/16 Susu yy	1/16 susu Yy	1/16 susu yy

**FIGURA 5.6.** Segregação para os caracteres textura e cor da semente de milho.

A partir de resultados como esses, foi enunciada a **Segunda Lei de Mendel**, também conhecida como **Lei da Distribuição Independente**, que diz: “Quando dois ou mais genes são considerados, cada um comporta-se independentemente do outro”. Esse fato ocorre, em razão da distribuição independente dos genes durante a meiose, para a formação dos gametas, isto é, os alelos Su e su se combinam ao acaso com os alelos Y e y para formarem os quatro gametas. Isto pode ser melhor visualizado utilizando-se o **cruzamento teste** (Tabela 5.8), que é o cruzamento dos indivíduos da geração  $F_1$  com um indivíduo homocigótico portador dos alelos recessivos.

A partir do cruzamento teste, pode-se verificar que os quatro tipos de gametas do indivíduo heterozigótico da geração  $F_1$  ocorrem em proporções iguais para cada tipo (Tabela 5.8). É importante salientar mais uma vez que no cruzamento teste, por ser o indivíduo testador homozigótico **su su yy**, é produzido um tipo de gameta (su y) que não altera a manifestação fenotípica determinada pelos alelos presentes nos gametas do heterozigoto. Assim, o fenótipo da descendência dependerá apenas do tipo de gameta produzido pelo genótipo **Su su Yy** dos indivíduos da geração  $F_1$ .

**TABELA 5.8.** Resultado do cruzamento teste que comprova a distribuição independente.

	$F_1$ (amarelas lisas)	x	(brancas enrugadas)
Gametas	Susu Yy $\frac{1}{4}$ <b>Su Y</b> $\frac{1}{4}$ <b>Su y</b> $\frac{1}{4}$ <b>su Y</b> $\frac{1}{4}$ <b>su y</b>		susu yy  <b>su y</b>
Descendentes	<b>Genótipos</b> $\frac{1}{4}$ Susu Yy $\frac{1}{4}$ Susu yy $\frac{1}{4}$ susu Yy $\frac{1}{4}$ susu yy		<b>Fenótipos</b> $\frac{1}{4}$ Sementes amarelas lisas $\frac{1}{4}$ Sementes brancas lisas $\frac{1}{4}$ Sementes amarelas enrugadas $\frac{1}{4}$ Sementes brancas enrugadas

Como já foi mostrado por meio do comportamento dos cromossomos durante a meiose, a distribuição independente irá ocorrer sempre que os genes estiverem situados em cromossomos diferentes. Existe uma outra condição em que a distribuição será independente quando os genes situam-se no mesmo cromossomo, porém esse assunto será abordado no Capítulo 9.

## 5.6 GENERALIZAÇÕES DAS PROPORÇÕES MENDELIANAS

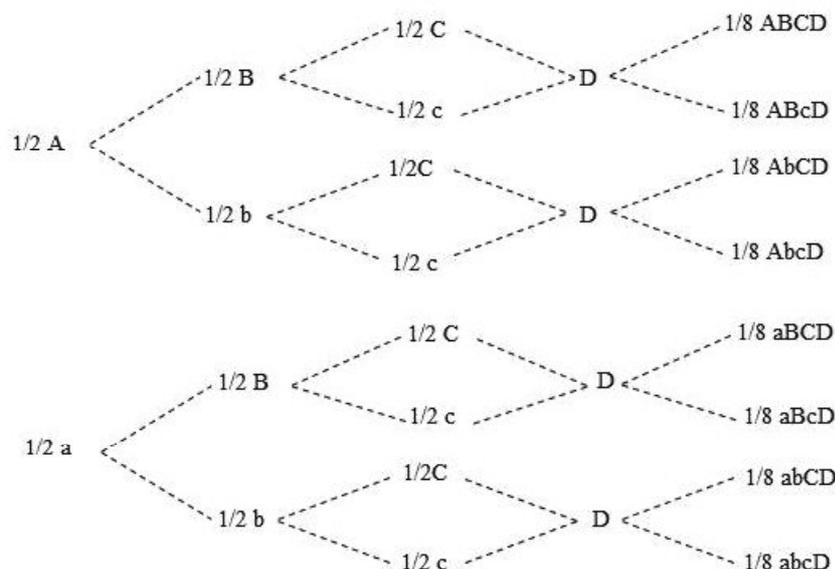
Até o momento, foram apresentados exemplos envolvendo apenas um ou dois genes. Quando ocorrem três genes ou mais, irão aparecer muitas classes genotípicas nas gerações segregantes. Contudo, o princípio da segregação e distribuição independente dos genes é sempre o mesmo, não importando o número de genes envolvidos. Assim, é possível fazer previsões, utilizando a lei do produto das probabilidades, para qualquer número de genes de um organismo diplóide, e considerando cada gene com dois alelos (Tabela 5.9).

**TABELA 5.9.** Generalizações do que é esperado quando se tem um caráter controlado por diferente número de genes. Considerando um indivíduo diplóide, heterozigótico e com dois alelos por loco.

Número de Genes	Número de Gametas Diferentes em F <sub>1</sub>	Combinações Genotípicas Possíveis em F <sub>2</sub>	Classes Genotípicas Diferentes em F <sub>2</sub>	Número de Genótipos homozigóticos em F <sub>2</sub>
1	2	4	3	2
2	4	16	9	4
3	8	64	27	8
4	16	256	81	16
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
n	2 <sup>n</sup>	4 <sup>n</sup>	3 <sup>n</sup>	2 <sup>n</sup>

### 5.7 MODO PRÁTICO PARA DETERMINAÇÃO DOS GAMETAS E DOS DESCENDENTES DE CRUZAMENTOS

Quando se trabalha com mais de três genes, a determinação dos diferentes tipos de gametas fica trabalhosa e ainda podem ocorrer omissões. Um método simples e seguro de determiná-los consiste em escrever os alelos do primeiro gene na vertical, com intervalo entre as letras. Em seguida, à frente de cada um escreve-se os alelos do segundo gene. Do mesmo modo, acrescentamos os de um terceiro, quarto etc., unindo, por traços, aos alelos acrescentados anteriormente. Seguindo os traços que unem os alelos dos diferentes genes e anotando todos os alelos pelos quais passaram os traços, temos automaticamente a constituição dos gametas com relação aos alelos envolvidos. O processo é absolutamente seguro, rápido e fácil de compreender, como pode ser visto na Figura 5.7.



**FIGURA 5.7.** Gametas com as respectivas frequências produzidos por um indivíduo de genótipo **Aa Bb Cc DD**. Observe que o indivíduo é homocigótico para o alelo **D** e, nesse caso, ele é representado apenas uma vez, sendo sua frequência evidentemente igual a 1. Para os demais locos são colocados os dois alelos, por estarem em heterocigose. Nesse caso, a frequência do gameta **AbcD** é  $1/8$ , o que corresponde ao produto da probabilidade de cada alelo ocorrer neste gameta,  $1/2A \times 1/2 b \times 1/2c \times 1D$ .

Queremos salientar que desde que tenha sido entendida a herança de um gene, se estiverem envolvidos vários genes o raciocínio é sempre o mesmo e, desde que a distribuição seja independente, teremos sempre um produto de probabilidade de cada um dos locos envolvidos. Seja por exemplo a autofecundação de um indivíduo  $F_1$  de constituição **Aa Bb Cc Dd Ee**, se estivermos interessados em verificar a proporção de indivíduos com o genótipo **AA BB CC DD EE** na geração  $F_2$ , procederemos do seguinte modo: para o gene **A**, é esperado na  $F_2$  os genótipos **AA**, **Aa** e **aa**, como já vimos, nas proporções de  $1/4$ ,  $2/4$  e  $1/4$ , respectivamente. Para os demais genes, logicamente, é válido o mesmo raciocínio. Considerando os genes em conjunto teremos a probabilidade de ser **AA** e **BB**, e ... **EE**, sendo que esse “e” indica um produto de probabilidade (ver Capítulo 7). Assim, a proporção esperada do genótipo **AA BB CC DD EE** deverá ser de  $1/4$  (**AA**)  $\times$   $1/4$  (**BB**)  $\times$   $1/4$  (**CC**)  $\times$   $1/4$  (**DD**)  $\times$   $1/4$  (**EE**), isto é,  $(1/4)^5 = 1/1024$ . Se a pergunta fosse para o genótipo **Aa BB Cc dd EE**, teríamos:  $2/4$  (**Aa**)  $\times$   $1/4$  (**BB**)  $\times$   $2/4$  (**Cc**)  $\times$   $1/4$  (**dd**)  $\times$   $1/4$  (**EE**), ou seja,  $(2/4)^2 \cdot (1/4)^3 = 4/1024 = 1/256$ .

Suponhamos agora a seguinte indagação. Qual a frequência do genótipo **Aa Bb cc DD ee Ff** a partir do cruzamento **Aa BB Cc Dd Ee ff**  $\times$  **Aa bb cc Dd Ee FF**? Nesse caso, devemos identificar primeiro os locos que estão em heterocigose em ambos os indivíduos que serão cruzados, isto é, os locos **A**, **D** e **E**. Para esses, o procedimento é idêntico ao anterior. O

segundo passo é identificar os locos que são homocigotos em ambos os pais, não importando se os pais têm alelos iguais ou não, no caso o loco **B** e o **F**. Para eles, a descendência só terá uma única possibilidade. Se os alelos são iguais em ambos os pais, o descendente será homocigoto para aquele loco, se diferentes, o indivíduo será heterocigoto. Finalmente, devemos verificar os locos em que há heterocigose em um dos genitores e homocigose no outro. O loco **C** se enquadra nesse caso, **Cc** de um lado e **cc** do outro. A descendência será  $1/2$  **Cc** e  $1/2$  **cc**. Temos então condição de fornecer a proporção esperada do genótipo desejado. Do exposto  $2/4$  (**Aa**) x  $1$  (**Bb**) x  $1/2$  (**Cc**) x  $1/4$  (**DD**) x  $1/4$  (**ee**) x  $1$  (**Ff**), o que corresponde a  $2/128 = 1/64$ .

Se a indagação fosse em termos fenotípicos, ao invés de genotípicos o procedimento seria semelhante. Considere, por exemplo, a autofecundação de um indivíduo  $F_1$  **Aa Bb Cc Dd Ee**, em que as letras maiúsculas identificam os alelos dominantes. Qual a frequência esperada de descendentes com o mesmo fenótipo do indivíduo da  $F_1$  na geração  $F_2$ ? Novamente, vamos considerar apenas o loco **A**. Se há dominância, os indivíduos do genótipo **AA** ou **Aa** da  $F_2$  possuem o mesmo fenótipo do  $F_1$ . O **ou** indica que os eventos são mutuamente exclusivos, a ocorrência de um deles impede a ocorrência do outro. Nesse caso, teremos uma aplicação da soma de probabilidade,  $1/4$  **AA** +  $2/4$  **Aa**, como já comentado  $A_+ = 3/4$ . Desse modo, na geração  $F_2$ , indivíduos com o mesmo fenótipo ao da  $F_1$ , deverão ter o genótipo  $A_+ B_+ C_+ D_+ E_+$ , e irão ocorrer com a frequência de  $3/4$  ( $A_+$ ) x  $3/4$  ( $B_+$ ) x  $3/4$  ( $C_+$ ) x  $3/4$  ( $D_+$ ) x  $3/4$  ( $E_+$ ) =  $243/1024$ .

Vejamos agora o que ocorre com sucessivas gerações de autofecundação. Seja um indivíduo  $F_1$  de genótipo **Bb**, após uma autofecundação, teremos na geração  $F_2$ , os genótipos **BB**, **Bb** e **bb** com as frequências de  $1/4$ ,  $2/4$  e  $1/4$ , respectivamente. Após a segunda autofecundação, teremos a geração  $F_3$ . Os indivíduos da geração  $F_2$  que são homocigotos, pelas razões que já foram apresentadas, manterão a sua constituição genotípica. Porém, os heterocigotos **Bb**, que estão com a frequência de  $1/2$ , deverão segregar. Como se observa, o seu genótipo é igual ao da  $F_1$  e após a autofecundação teremos  $1/4$  (**BB**)  $2/4$  (**Bb**)  $1/4$  (**bb**). Como apenas metade dos indivíduos da  $F_2$  são **Bb**, teremos que multiplicar essas proporções por  $1/2$ . Assim, teremos  $1/8$  (**BB**)  $2/8$  (**Bb**)  $1/8$  (**bb**), como resultado da descendência do indivíduo  $F_2$  de genótipo **Bb**. Na  $F_3$ ,  $3/8$  dos indivíduos serão **BB**, sendo  $1/4$  oriundos da autofecundação do indivíduo **BB** e  $1/8$  do **Bb**. O mesmo raciocínio é válido para o indivíduo **bb**. Teremos, então, **BB** ( $3/8$ ), **Bb** ( $2/8$ ) e (**bb**)  $3/8$ . Como se constata em cada autofecundação a frequência dos heterocigotos reduz-se a metade e a dos homocigotos aumenta (Tabela 5.10). Pode-se extrapolar para uma geração  $F_g$  qualquer em que a frequência do heterocigoto será de  $(1/2)^{g-1}$  e dos dois homocigotos  $1 - (1/2)^{g-1}$ . Como são dois homocigotos (**BB** e **bb**), a frequência de cada um será de  $[1 - (1/2)^{g-1}]/2$ .

Quando estão envolvidos vários genes e sucessivas autofecundações, o raciocínio é análogo. Seja a autofecundação do indivíduo  $F_1$  **Aa Bb Cc Dd Ee Ff** até a geração  $F_5$ . Qual a frequência do genótipo **AA BB CC DD EE FF** nessa geração? Como foi visto

anteriormente, a frequência do genótipo **AA** na  $F_5$  deverá ser  $[1-(1/2)^{5-1}]/2 = [1-(1/2)^4]/2 = 15/32$ . Desse modo, na  $F_5$  teremos:  $15/32$  (**AA**) x  $15/32$  (**BB**) x  $15/32$  (**CC**) x  $15/32$  (**DD**) x  $15/32$  (**EE**) x  $15/32$  (**FF**) =  $(15/32)^6 = 1,06\%$ .

**TABELA 5.10.** Frequências genotípicas esperadas com as sucessivas autofecundações de um indivíduo de genótipo **Bb**.

Gerações	Frequência genotípica		
	BB	Bb	bb
$F_1$	0	1	0
$F_2$	1/4	1/2	1/4
$F_3$	3/8	2/8	3/8
$F_4$	7/16	2/16	7/16
.	.	.	.
.	.	.	.
.	.	.	.
$F_g$	$[1-(1/2)^{g-1}]/2$	$(1/2)^{g-1}$	$[1-(1/2)^{g-1}]/2$

Se for considerado um indivíduo qualquer, não necessariamente da geração  $F_1$ , a previsão do que ocorre com as autofecundações é a mesma, lembrando apenas que nos locos em homozigose não há alteração. Se o interesse for em determinar a frequência esperada de indivíduos com o genótipo **AA BB cc DD EE** após três autofecundações de um indivíduo de genótipo **Aa BB cc Dd Ee**, proceder-se do seguinte modo: nos locos que estão em homozigose **B**, **C** e **E** não há alteração, naqueles que estão em heterozigose, **A** e **D**, a frequência do genótipo homozigoto, após 3 autofecundações, deverá ser:  $[1-(1/2)^3]/2 = 7/16$ . A frequência esperada do genótipo **AA BB cc DD EE** deverá ser então:  $7/16$  (**AA**) x 1 (**BB**) x 1 (**cc**) x  $7/16$  (**DD**) x 1 (**EE**) =  $49/256 = 19,14\%$ .

É também possível conhecer todas as combinações genotípicas na descendência de um indivíduo qualquer, com **n** genes em heterozigose e após **g** autofecundações. Entre os descendentes é variável o número de locos com alelos em homozigose e suas combinações podem ser previstas pela distribuição binomial (Capítulo 7), ou seja:

$$(a + b)^n = \sum_{i=0}^n C_n^i a^i b^{n-i}$$

Em que: **a** e **b** são as probabilidades de os locos estarem em homozigose ou heterozigose, respectivamente; **i** é o número de locos em homozigose e varia de 0 a **n** e **n** é o número de locos envolvidos.

A partir dos conhecimentos anteriores é possível obter a probabilidade de se ter um loco em homozigose (**a**), utilizando a expressão  $a = 1 - (1/2)^{g-1}$ , e também a probabilidade de ter locos em heterozigose (**b**)  $b = (1/2)^{g-1}$ . Assim, o binômio assume a expressão  $[1 - (1/2)^{g-1} + (1/2)^{g-1}]^n$ , após algumas operações aritméticas chega-se a expressão:  $[(2^{g-1} - 1) + 1]^n$ . Como exemplo, seja o genótipo  $F_1$  **AaBbCc** autofecundado até a geração  $F_6$ . Nessa situação,  $g = 6$  e  $n = 3$ , assim teremos:  $[1 + (2)^{6-1} - 1]^3 = [1 + (2)^{6-1} - 1]^3 = (1 + 31)^3 = (32)^3 = 32.768$  combinações genotípicas

Entre esse total de combinações genotípicas pode-se estimar o número nas diferentes classes, contendo locos em homozigose ou heterozigose.

Então, com a expansão do binômio  $(31+1)^3$  em que nesse exemplo, 1 refere-se a loco em heterozigose e 31 a loco em homozigose e pode-se obter:  $(31 + 1)^3 = \sum_{i=0}^3 C_n^i (31^i 1^{n-i})$

**Para  $i = 0$** , nenhum loco em homozigose, tem-se:

$$C_3^0 (31^0 \cdot 1^3) = \frac{3!}{0!(3-0)!} (31^0 \cdot 1^3) = 1 \text{ indivíduo com todos os locos em heterozigose;}$$

De modo análogo, obtêm-se:

**Para  $i = 1$**

$$C_3^1 (31^1 \cdot 1^2) = \frac{3!}{1!(3-1)!} (31^1 \cdot 1^2) = 3 \cdot 31 \cdot 1^2 = 93 \text{ com dois locos em heterozigose e um em homozigose;}$$

**Para  $i = 2$**

$$C_3^2 (31^2 \cdot 1^1) = \frac{3!}{2!(3-2)!} (31^2 \cdot 1^1) = 3 \cdot 31^2 \cdot 1^1 = 2.883 \text{ com um loco em heterozigose e dois em homozigose;}$$

**Para  $i = 3$**

$$C_3^3 (31^3 \cdot 1^0) = \frac{3!}{3!(3-3)!} (31^3 \cdot 1^0) = 1 \cdot 31^3 \cdot 1^0 = 29.791 \text{ com todos os três locos em homozigose.}$$

Depreende-se, então, que a proporção de indivíduos em  $F_6$  com todos os locos em heterozigose é de 1 em 32.768. De modo análogo, a proporção de indivíduos com todos os três locos em homozigose é 29.791/32.768.

É importante frisar que se o indivíduo a ser autofecundado tiver locos em homozigose, estes não segregarão na descendência e não alterarão o número de combinações genotípicas derivadas dos locos em heterozigose.

**BOX 5.1. EFEITO DE XÊNIA**

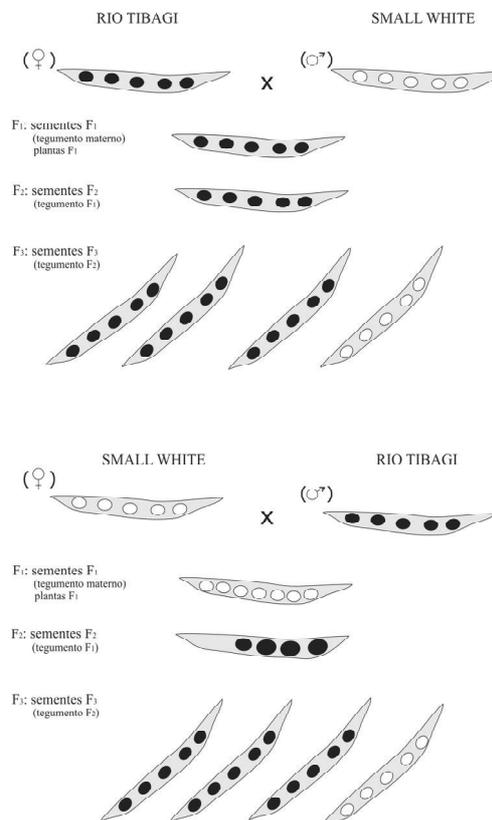
Existe alguma diferença no estudo da herança de um caráter como a textura da semente de milho e, por exemplo, o caráter altura da planta ou até mesmo a cor da semente do feijoeiro? Na realidade não há diferença. A metodologia é sempre a mesma já comentada, mas é necessário conhecer bem o caráter para fornecer a interpretação correta. Assim, por exemplo, vemos que um único gene controla o caráter textura da semente de milho, sendo o alelo **Su** responsável pelo fenótipo liso e o alelo recessivo **su** pelo fenótipo enrugado. Para a altura da planta também está envolvido um único gene, sendo o alelo dominante **Br** e o recessivo **br** responsáveis pelos fenótipos plantas altas e baixas, respectivamente.

Se for efetuado o cruzamento entre uma planta de milho homocigótica **BrBr SuSu** e uma planta **brbr susu**, sendo esta utilizada como genitor feminino, o que ocorrerá? Sendo o genitor feminino de genótipo **brbr susu**, ou seja, fenótipo baixo e com sementes enrugadas. Como será polinizada por pólen **Br Su** as sementes  $F_1$  terão a constituição genética **Br br Su su**. Como o alelo **Su** domina o **su**, as sementes, no caso da geração  $F_1$ , serão lisas. Se essas sementes  $F_1$  forem plantadas, teremos plantas  $F_2$ , de genótipo **Br br**, que serão altas. Como se vê, para o caráter textura das sementes, o produto do cruzamento - geração  $F_1$  - já se manifestou na geração da planta mãe. Quando isso ocorre diz-se que o caráter tem **xênia**, isto é, se manifesta sempre uma geração antes dos demais caracteres. No caso do caráter altura da planta é preciso semear a geração  $F_1$ , para que a planta “ $F_1$ ” expresse o fenótipo, portanto, não apresenta xênia.

Considerando o que foi discutido, pode-se argumentar que qualquer caráter relacionado a sementes deve apresentar o fenômeno de xênia. A realidade, no entanto, não é essa. Seja, por exemplo, o caráter cor da semente do feijão, que pode ser preta, genótipo **PP**, e branca, genótipo **pp**. Se uma planta **pp** for polinizada com pólen de uma planta de genótipo **PP**, as sementes resultantes serão pretas ou brancas? Se for considerado o raciocínio anterior, isto é, que toda característica da semente possui xênia, as sementes deveriam ser pretas. Contudo, nesse caso, as sementes em vez de pretas serão brancas. Somente quando essas sementes brancas de genótipo **Pp**, provenientes de plantas **pp**, forem semeadas, é que as plantas  $F_1$  produzirão sementes pretas. Assim, o caráter, apesar de ser da semente, não tem xênia.

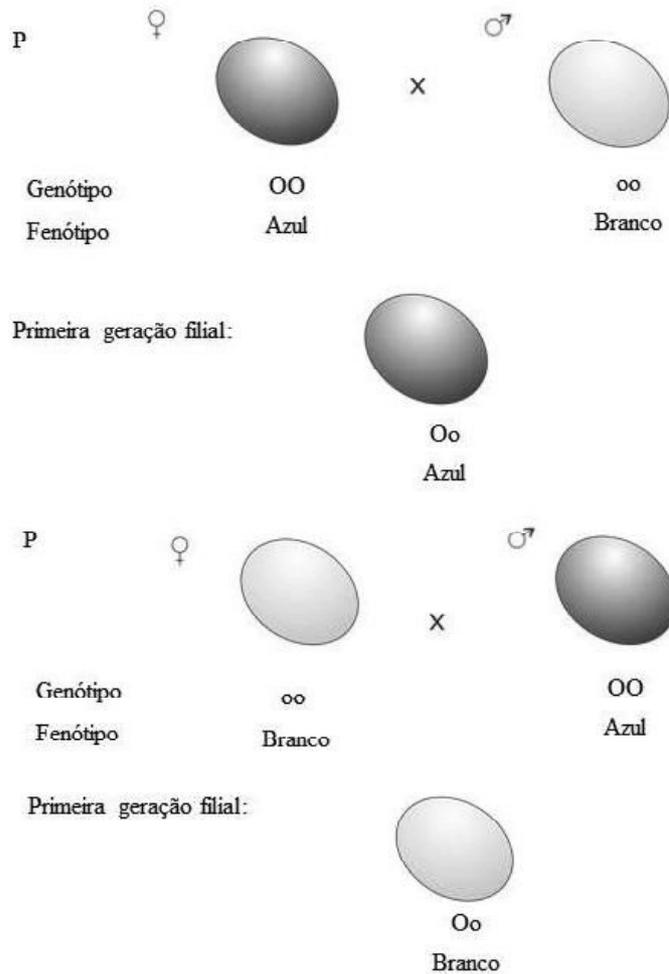
Qual a razão dessa diferença? Na resposta a essa indagação é que entra o aspecto da necessidade de se conhecer detalhes do caráter em estudo. No caso da textura do

milho, o fato de ser lisa ou enrugada depende do teor de amido presente no endosperma da semente, o qual é produto da fertilização. Já, a cor da semente é uma característica do tegumento, ou seja, é proveniente do desenvolvimento da parede do ovário, sendo, portanto, um caráter que se expressa no final do ciclo da planta. Assim, no caso da semente do feijoeiro, temos caracteres que se expressam nos tecidos embrionários, na fase inicial da vida, e apresentam, portanto, xênia, enquanto o tegumento, por ser um tecido materno, não possui xênia. Assim, a cor do tegumento do feijão é determinada antes da fertilização. Do exposto, pode-se então complementar e dizer que o fenômeno de xênia só ocorre para características que se manifestam no endosperma e embrião das sementes, cuja expressão fenotípica é dependente do resultado da fertilização.



O que ocorre em animais? Eles apresentam **Xênia**? Como a maioria não tem uma fase intermediária como é o caso da semente em vegetais, não há xênia. Contudo, nas aves, os ovos produzidos é uma situação semelhante a das sementes. Vamos utilizar

como exemplo, a cor da casca do ovo em aves. Quando um galo de uma raça que produz ovos brancos, genótipo **oo** cruza com galinha de ovos azuis, genótipo **OO**, tem-se na primeira geração filial 100% de ovos azuis, com genótipo **Oo** e quando um galo de uma raça que produz ovos azuis, genótipo **OO** cruza com galinha de ovos brancos, genótipo **oo**, tem se na primeira geração filial 100% de ovos brancos, com genótipo **Oo**. Assim como ocorreu com a casca da semente do feijão, a cor do ovo não tem xênia, pois a manifestação de qualquer caráter da casca depende da constituição apenas da mãe. Já quando o óvulo é fertilizado os caracteres que se manifestam no ovo irão apresentar xênia, entretanto, na maioria dos casos não há interesse nesses caracteres, pois a observação do fenótipo necessariamente envolveria a retirada da casca e, conseqüentemente, dificilmente poderia ocorrer a eclosão do pintinho para continuar os estudos genéticos.



**PROBLEMAS PROPOSTOS**

1. No milho, a semente pode ser lisa (endosperma com amido) ou enrugada (endosperma com açúcar solúvel em água). A partir do cruzamento de duas cultivares puras, sendo uma com sementes lisas e outra com sementes enrugadas (milho doce), obtiveram-se os seguintes resultados:

Populações	Fenótipos das sementes (número)	
	Lisa	Enrugada
P <sub>1</sub>	400	-
P <sub>2</sub>	-	320
F <sub>1</sub>	560	-
F <sub>2</sub>	370	125

- a) Forneça uma provável explicação para a herança do caráter.
- b) Se uma das espigas F<sub>2</sub> não apresentar a proporção fenotípica 3 lisa: 1 enrugada, qual seria a explicação?
- c) Quantas sementes lisas da geração F<sub>2</sub> deveriam ser semeadas para originar 300 plantas puras?
- d) Há outra maneira de comprovar que ocorreu segregação além do resultado observado na F<sub>2</sub>?
- e) Se as plantas provenientes de sementes lisas da geração F<sub>2</sub> forem autofecundadas, qual seria o resultado genotípico e fenotípico esperado?
2. Considerando o caráter textura da semente do milho, relatado no problema anterior, o que ocorreria se o campo de plantas F<sub>1</sub> recebesse 30% dos grãos de pólen de uma plantação próxima, homocigótica para sementes lisas?
3. Em galinhas, a ausência de penas no pescoço é decorrente do alelo dominante **N**, e a presença de penas, ao alelo recessivo **n**. Qual o procedimento para a seleção mais rápida, a partir de uma população F<sub>2</sub>, de galinhas homocigóticas com pescoço pelado?
4. Um touro mocho (sem chifres) foi cruzado com três vacas. Com a vaca **A** chifruda, foi obtido um descendente sem chifres. Com a vaca **B**, também chifruda, obteve-se um descendente chifrudo. E finalmente com a vaca **C** mocha foi produzido um descendente chifrudo.
- a) Qual o provável genótipo dos animais envolvidos nos cruzamentos?
- b) Como proceder para obter um plantel com pelo menos 20 animais mochos homocigóticos a partir do cruzamento do touro com a vaca **C**?

5. Em alface, o alelo **C** condiciona folha crespa e o recessivo **c**, folha lisa. A partir do genótipo **Cc**, quais as proporções genótípicas e fenotípicas esperadas após a quarta geração de autofecundação?
6. Considerando os dados do problema anterior, qual seria o resultado esperado na quarta geração, se as plantas fossem cruzadas aleatoriamente em vez de autofecundadas?
7. No tomateiro, a folha pode ser normal (bordos recortados) ou batata (bordos lisos). Foram realizados vários cruzamentos envolvendo indivíduos com esses dois fenótipos e obtidos os seguintes resultados:

Fenótipo das plantas envolvidas nos cruzamentos	Fenótipo dos descendentes (número)	
	Normal	Batata
1) Normal x Batata	92	0
2) Normal x Normal	155	52
3) Batata x Batata	0	83
4) Normal x Batata	47	43
5) Normal x Normal	85	0

- a) Forneça uma provável explicação para a herança do caráter.
- b) Especifique o genótipo das plantas envolvidas nos cruzamentos.

8. Em um trabalho realizado para estudar a herança da época de florescimento em pepino, foram obtidos os seguintes resultados:

Populações	Número de plantas com florescimento	
	Precoce	Tardio
P <sub>1</sub>	50	-
P <sub>2</sub>	-	50
F <sub>1</sub>	50	-
RC <sub>1</sub> (F <sub>1</sub> x P <sub>1</sub> )	195	-
RC <sub>2</sub> (F <sub>1</sub> x P <sub>2</sub> )	101	91
F <sub>2</sub>	281	80

- a) Forneça todas as interpretações genéticas e estatísticas para estes resultados.
- b) Quantas sementes F<sub>2</sub> necessitariam ser semeadas para se obter 150 plantas com florescimento tardio?

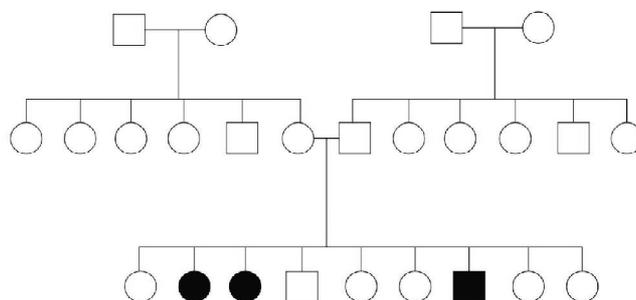
9. No cruzamento entre a cultivar de tomate Santa Cruz ( $P_1$ ), que possui hipocótilo roxo e folha normal, com a cultivar Folha Batata ( $P_2$ ), que apresenta hipocótilo verde e folha batata, foram obtidos os seguintes resultados:

Gerações	Fenótipos (número)			
	Hip. roxo Folha normal	Hip. roxo Folha batata	Hip. verde Folha normal	Hip. verde Folha batata
$F_1$	25	-	-	-
$F_2$	238	75	80	26
$RC_1$	163	-	-	-
$RC_2$	45	43	39	44

- a) Interprete geneticamente esses resultados.  
b) Esquematize os cruzamentos realizados.
10. Considere os dados do problema 9.
- a) Quais os resultados que indicam a ocorrência da distribuição independente?  
b) Em que fase da meiose e em qual geração ocorreu a distribuição independente para produzir esses resultados?
11. O arroz possui  $2n = 24$  cromossomos. Considere que em uma planta ocorra um alelo dominante em cada cromossomo e o alelo recessivo correspondente no seu homólogo, isto é, a planta é heterozigótica para esses doze genes. Se essa planta for autofecundada, pergunta-se:
- a) Qual a frequência esperada dos descendentes com o fenótipo condicionado pelo alelo recessivo dos doze genes?  
b) Qual a frequência esperada dos descendentes com o mesmo genótipo da planta autofecundada?  
c) Qual a frequência esperada dos descendentes com o mesmo fenótipo da planta autofecundada?  
d) Quais seriam esses resultados se essas plantas fossem autofecundadas por mais uma geração?
12. Na mandioca, raízes marrons são decorrentes do alelo dominante **B** e raízes brancas, do alelo recessivo **b**. Foliolos estreitos são decorrentes do alelo dominante **L** e folíolos largos, do alelo recessivo **l**. Uma planta de raízes marrons e folíolos estreitos foi cruzada

com outra de raízes brancas e folíolos largos, e produziram 40 descendentes com folíolos estreitos, dos quais a metade tinha raízes marrons e a outra metade, de raízes brancas. Quais os genótipos dos genitores e a proporção genotípica dos descendentes?

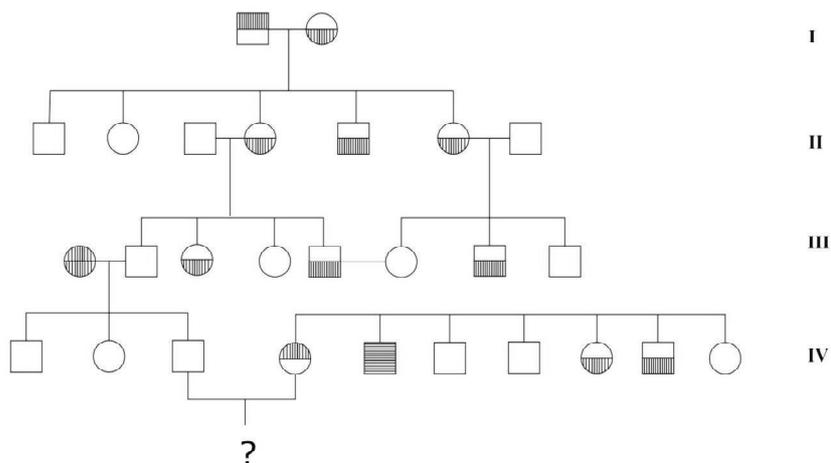
13. Em equinos, o alelo dominante **T** é responsável pelo trote e o alelo recessivo **t** é responsável pela marcha. Para a cor de pelagem, o alelo **A** é responsável pelo fenótipo baio e o alelo recessivo **a**, pelo fenótipo preto. Um criador possui um cavalo marchador preto e várias éguas puras para o trote e baias. Como o criador deseja obter animais puros marchadores e baios, qual deve ser seu procedimento? Explique.
14. Uma planta de pepino de genótipo **BBCCTTWW** foi cruzada com outra de genótipo **bbccttww** para produzir a geração  $F_1$ , a qual foi autofecundada para obtenção da geração  $F_2$ . Assumindo que esses genes controlam as seguintes características: **B** espinhos pretos; **b** espinhos brancos; **C** resistência ao vírus do mosaico; **c** suscetibilidade ao vírus do mosaico; **T** presença de gavinhas; **t** ausência de gavinhas; **W** fruto imaturo de cor verde; **w** fruto imaturo de cor branca.
- a) Que proporção de  $F_2$  apresentará o fenótipo espinhos brancos, suscetibilidade ao vírus do mosaico, ausência de gavinhas e o fruto de cor branca?
- b) Que proporção de  $F_2$  apresentará o fenótipo espinhos pretos, resistência ao vírus do mosaico, presença de gavinhas e fruto imaturo de cor verde?
- c) Que proporção de  $F_2$  é genotipicamente semelhante à geração  $F_1$ ?
- d) Quais seriam as respostas dos itens anteriores se os genitores apresentassem genótipos **BBCcttww** e **bbccTTWW**?
15. Quais seriam as respostas do problema anterior se as plantas  $F_2$  fossem autofecundadas até a geração  $F_4$ ?
16. A reação ao vírus do mosaico do pepino é controlada por um gene, sendo o alelo **R**-dominante responsável pela resistência, e **r** pela suscetibilidade a essa virose. Uma cultivar resistente - homocigótica - foi cruzada com outra suscetível, sendo obtida a geração  $F_1$ . Posteriormente, as plantas obtidas foram submetidas a algumas autofecundações. Na última autofecundação, geração  $F_n$ , a proporção de plantas suscetíveis era de 31/64. Quantas autofecundações foram realizadas para se obter esse resultado?
17. A seguir é apresentado o heredograma de uma família de suínos:



O fenótipo identificado pelo hachurado representa a ocorrência de animais com cistos renais em suínos. Essa anomalia é decorrente de um alelo dominante ou recessivo? Justifique sua resposta com detalhes.

18. A transmissão de duas anomalias raras em cães é mostrada na genealogia apresentada na página seguinte. A característica 1, neuropatia hipertrofica - causa danos sensoriais e motor, é indicada pela parte hachurada na metade superior e a característica 2, linfedema primário - anormalidade do sistema linfático é identificada pela parte hachurada na metade inferior. Utilizando o símbolo **A** para o gene responsável pela característica 1 e **B** para a característica 2, pede-se:

- Que tipo de herança está envolvida no controle de cada uma das patologias?
- Coloque o provável genótipo de todos os indivíduos na etapa IV.
- Se os indivíduos identificados na genealogia etapa IV forem acasalados, que proporção fenotípica é esperada.





# 6 INTERAÇÕES ALÉLICAS E NÃO-ALÉLICAS

## 6.1 INTRODUÇÃO

Os efeitos dos alelos (genótipos), para formar os fenótipos, dependem de sua ação e de sua interação. Para exemplificar esses efeitos, vamos utilizar o caráter textura da semente do milho, cujo controle genético foi estudado no Capítulo 5. Vimos que esse controle é monogênico e estão envolvidos os alelos **Su**, responsável pela produção de sementes lisas, e **su**, responsável pela produção de sementes enrugadas. Esses alelos combinam-se para formar os genótipos **SuSu**, **Susu** e **susu**. Em cada genótipo homocigótico, ocorre apenas um alelo e, temos então, neste caso, apenas a ação desse alelo, ou seja, a semente lisa do genótipo **SuSu** é decorrente da ação do alelo **Su** e a semente enrugada do genótipo **susu** é decorrente da ação do alelo **su**. Já, o genótipo heterocigótico possui dois alelos, **Susu**, e a semente lisa que ele produz é proveniente da ação combinada destes dois alelos que é denominada de **interação alélica**.

## 6.2 INTERAÇÕES ALÉLICAS

Existem vários tipos de interação alélica e o procedimento para a sua identificação consiste em comparar o fenótipo do heterocigoto com os fenótipos dos homocigotos. A seguir são apresentados os principais tipos:

### 6.2.1 Dominância Completa

O caráter textura da semente do milho, analisado no Capítulo 5, é um exemplo da ocorrência de dominância completa. Isso porque foi visto que do cruzamento de genótipos homocigóticos, para sementes lisas e enrugadas, obteve-se na  $F_1$  somente sementes lisas que é a expressão do heterocigoto. Na geração  $F_2$ , observou-se a segregação fenotípica para a textura da semente, de 3 lisas:1 enrugada, que é característica desse tipo de interação alélica. Observa-se ainda que, nesse caso, não se pode identificar o genótipo quando a semente tem o fenótipo liso, isto é, o homocigoto e o heterocigoto apresentam o mesmo fenótipo, já no caso do fenótipo enrugado, condicionado pelo alelo recessivo, isso é possível.

Pelo exposto para este tipo de interação, aparentemente o alelo dominante impede a expressão do alelo recessivo, quando estão juntos, e o fenótipo decorrente do alelo recessivo só é produzido pelo indivíduo portador do genótipo homozigótico para esse alelo.

No Capítulo 3, foi comentado que um gene corresponde a um segmento de DNA que codifica para formação de uma cadeia polipeptídica e que, na maioria das vezes, irá atuar como uma enzima em um passo de uma via metabólica. Essa via, por sua vez, produz um produto final que constitui o fenótipo que observamos. Assim, sob o ponto de vista bioquímico, um alelo dominante é considerado aquele que codifica uma enzima funcional e que permite uma via metabólica produzir um produto final. Em contrapartida, o alelo recessivo, em geral, corresponde a um mutante sem sentido, que não produz nenhuma enzima, ou um mutante de sentido errado, que produz uma enzima não funcional, ou com eficiência muito reduzida em relação ao alelo não mutante. Em qualquer caso, a via metabólica fica interrompida ou a quantidade do produto final é muito pequena. É necessário salientar que a dominância completa refere-se aos casos quando, no heterozigoto, o alelo dominante produz uma quantidade suficiente de enzima, necessária para que seja produzida uma quantidade de produto final, pela via metabólica, igual à produzida pelo indivíduo portador do genótipo homozigótico para o alelo dominante.

Utilizando novamente o caráter textura da semente do milho, nas sementes enrugadas (**susu**), 39% da matéria seca do grão são açúcares solúveis em água e apenas 32% da matéria seca correspondem ao amido. No milho normal, **SuSu**, por outro lado, não ocorre açúcares solúveis em água e a quantidade de amido corresponde a 83% da matéria seca. Já foi constatado também que os grãos heterozigóticos não possuem quantidades intermediárias de açúcares solúveis em água. Portanto, podemos deduzir que os açúcares solúveis em água são os substratos que são convertidos em amido, por intermédio da enzima codificada pelo alelo funcional **Su**, levando à produção de sementes lisas, enquanto nas sementes enrugadas esses substratos foram simplesmente acumulados, porque o alelo **su** não produz uma enzima funcional. É interessante lembrar que o amido presente nos grãos de milho doce, **susu**, é oriundo de outras vias metabólicas independentes da ação do alelo **Su**.

### 6.2.2 Dominância Incompleta

Neste tipo de interação alélica, o fenótipo do heterozigoto situa-se no intervalo estabelecido pelos fenótipos dos homozigotos para os dois alelos em consideração. A herança da forma da raiz do rabanete é um exemplo típico (Tabela 6.1).

**TABELA 6.1.** Forma da raiz do rabanete. O fenótipo intermediário da  $F_1$  em relação aos parentais juntamente com o resultado da geração  $F_2$ , caracterizam um caso de dominância incompleta. Note que os alelos são diferenciados por expoentes.

P:			
Genótipos:	$r^1 r^1$	x	$r^2 r^2$
Fenótipos:	(raiz longa)		(raiz esférica)
F <sub>1</sub> :			
Genótipo:	$r^1 r^2$		
Fenótipo:	(raiz oval)		
F <sub>2</sub> :			
Genótipos:	$\frac{1}{4} r^1 r^1$	$\frac{1}{2} r^1 r^2$	$\frac{1}{4} r^2 r^2$
Fenótipos:	(raiz longa)	(raiz oval)	(raiz esférica)

Observa-se que o fenótipo do heterozigoto é intermediário e que, neste caso, é possível identificar qualquer genótipo por meio de seu fenótipo.

Em termos bioquímicos, a explicação é semelhante àquela apresentada para dominância completa, ou seja, um dos alelos produz uma enzima funcional e permite que a via metabólica libere um produto final, que é responsável pela expressão de um fenótipo. No entanto, o outro alelo não permite a formação de um produto final, pela falta de uma enzima funcional. A única diferença é que, na dominância incompleta, a quantidade de produto final da via metabólica é menor do que no homozigoto e, em consequência, a expressão do heterozigoto é intermediária.

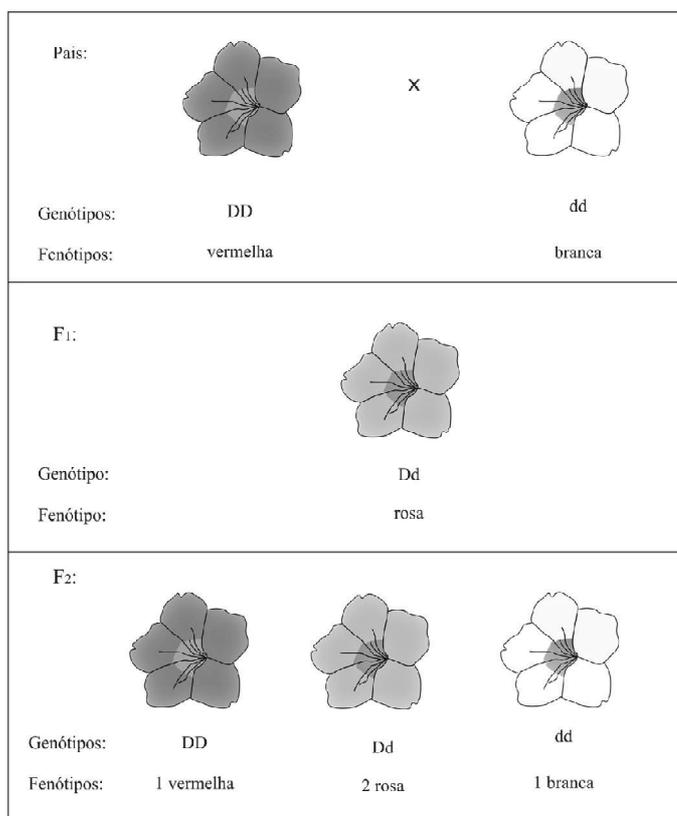
Convém salientar que o tipo de interação alélica depende do grau de profundidade empregado na análise dos fenótipos. Ocorre algumas vezes que, no estudo de um dado caráter, determina-se um tipo de interação alélica, quando o exame dos fenótipos é superficial. Porém, numa observação mais minuciosa, verifica-se que ocorre outro tipo de interação alélica. Isso é o que acontece com a textura da semente em ervilha, que pode ser lisa e enrugada. Do cruzamento de indivíduos puros lisos **RR**, com enrugados **rr**, observa-se que 100% das sementes  $F_1$  - **Rr** - são lisas, como um dos pais.

Esse resultado sugere que a interação alélica é do tipo dominância completa. No entanto, examinando-se os grãos de amido dos genótipos homozigóticos e heterozigóticos, observa-se que a semente **RR** possui muitos grãos de amido grandes, a **rr** possui poucos grãos pequenos e a semente **Rr** possui grãos de amido em quantidade e tamanho intermediários, indicando, assim, que, na análise dos grãos de amido, ocorre dominância incompleta.

Um exemplo semelhante é a citrulinemia que ocorre em bovinos da raça holandesa, que consiste em uma profunda depressão do recém-nascido, causando a morte entre três e cinco dias de idade. Esse fenótipo ocorre pela intoxicação por amônia que se acumula no

organismo, em decorrência da ausência da enzima argininosuccinatosintetase (ASS), que transforma amônia em uréia. Sabe-se que os animais com citrulinemia são homocigóticos para o alelo defeituoso, resultante de uma mutação no 86º códon, pela substituição do códon CGA para UGA no mRNA, causando um ponto final. Portanto, na avaliação clínica, trata-se de um exemplo de dominância completa. Porém, o teste em laboratório dos animais heterocigóticos mostra 50% de atividade da enzima ASS caracterizando a dominância incompleta. Essa avaliação bioquímica é importante para o diagnóstico dos animais portadores do alelo recessivo, o heterocigoto, para evitar que eles se reproduzam.

Em termos bioquímicos, há autores que consideram alguns caracteres em que ambos os alelos mostram-se ativos, ocorrendo diferença acentuada na contribuição de cada um. Um exemplo é o teor de vitamina A no endosperma do milho, controlado por dois alelos **Y** e **y**. Nesse exemplo, em um grama de endosperma, **Y** contribui com cerca de 2,20 unidades de vitamina A, e **y** contribui com aproximadamente 0,05 unidades. Ainda em termos bioquímicos, um outro exemplo ocorre em maravilha, onde do cruzamento de linhagens puras com pétalas vermelhas cruzadas com linhagens puras de pétala branca, a geração  $F_1$  tem pétalas rosas (Figura 6.1) e a geração  $F_2$  segrega 1 vermelha: 2 rosas: 1 branca. A explicação pode ser dada



**FIGURA 6.1.** Exemplo de dominância incompleta em maravilha.

em número de doses do alelo que determina a concentração de um determinado pigmento (cor). Duas doses geram mais quantidade de proteína e, portanto, maior quantidade de pigmento, o bastante para tornar as pétalas vermelhas. A dose única (heterozigoto) produz menos pigmento, e, assim, as pétalas são rosa. A dose zero não produz pigmentos e as flores são brancas.

### 6.2.3 Codominância

Essa interação alélica se caracteriza pelo fenótipo do heterozigoto apresentar-se como uma mistura dos fenótipos de seus genitores homozigóticos. A codominância é frequentemente confundida com a dominância incompleta. A diferença entre elas ocorre porque, na codominância, os dois alelos presentes no heterozigoto são ativos e independentes. Em termos bioquímicos, cada alelo do heterozigoto condiciona a formação de uma proteína ou enzima funcional.

Um exemplo dessa interação corresponde à resistência do linho a duas raças de ferrugem. Nesse exemplo, a planta  $M^1M^1$  é resistente à raça 1, a planta  $M^2M^2$  é resistente à raça 2, e a planta  $M^1M^2$  é resistente às duas raças. Assim, em um campo onde ocorrem as duas raças, somente o heterozigoto não apresentará a doença, e uma população  $F_2$  apresentará a segregação de 25% das plantas resistentes apenas à raça 1, 50% resistentes às duas raças e 25% resistentes apenas à raça 2. Nesse caso, provavelmente no heterozigoto  $M^1M^2$ , o alelo  $M^1$  é responsável pela proteína receptora que reconhece uma molécula específica de uma raça patogênica, a raça 1 de ferrugem e o alelo  $M^2$  condiciona o reconhecimento da outra raça.

Um outro exemplo interessante de codominância ocorre na raça de bovinos Shorthorn. Nesses animais, a pelagem pode ser vermelha, branca ou ruão. Quando cruza-se um touro vermelho com vacas brancas na geração  $F_1$  ocorrem animais ruões e na  $F_2$  a segregação é de 1/4 vermelho; 2/4 ruão e 1/4 branco (Figura 6.2). Observando o pelo dos animais ruões nota-se que são vermelho e branco, em igual proporção, o que dá o aspecto ruão. Nesse caso, então, está envolvido o gene  $R$ , com dois alelos funcionais, o alelo  $R^1$  confere a cor vermelha e o  $R^2$  a cor branca. No heterozigoto  $R^1R^2$ , por ter os dois alelos funcionais, são produzidos os pelos vermelhos e brancos.

Vários caracteres em plantas e animais exibem codominância, que pode ser verificada por meio da identificação das substâncias que constituem os seus fenótipos. Isto é conseguido, por exemplo, por intermédio de eletroforese, no qual se consegue separar proteínas diferentes quando submetidas a um campo elétrico.

A mistura de proteínas é colocada em um gel e, dependendo do tamanho da molécula e de sua carga elétrica, ela se desloca no gel até uma posição específica. Quando se identificam as posições, observam-se bandas, cada uma correspondente a uma proteína. Um dos exemplos de codominância estudado por meio da técnica de eletroforese é a presença de albumina no soro sanguíneo de cavalo. A albumina A é condicionada pelo alelo  $Al^A$  e a albumina B pelo alelo  $Al^B$ . Um animal  $Al^AAl^A$  possui somente a albumina A no soro sanguíneo

e forma apenas uma banda no gel de eletroforese. O animal  $AI^B AI^B$  possui somente a albumina B e forma também apenas uma banda, só que numa posição diferente da banda da albumina A. O animal  $AI^A AI^B$  possui as duas albuminas e exibe as duas bandas, caracterizando a codominância entre os dois alelos.

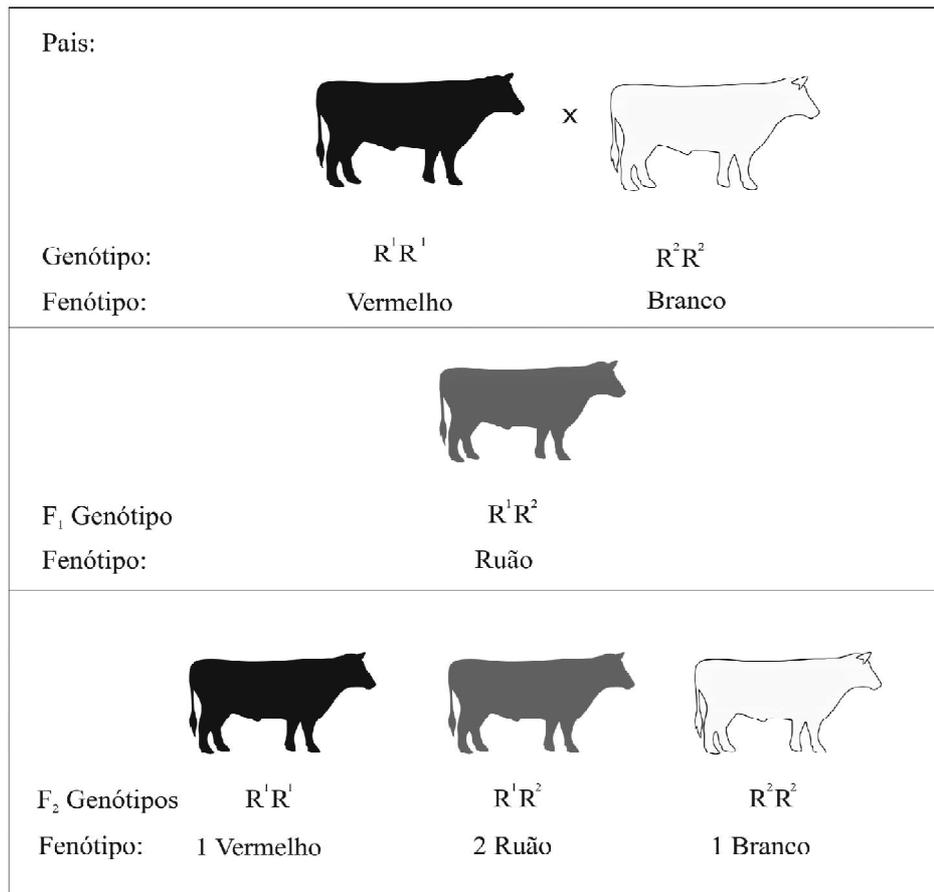


FIGURA 6.2. Exemplo de codominância. Cor da pelagem de bovino da raça Shorthorn.

### 6.2.4 Alelos Letais

Alguns alelos apresentam um comportamento bem peculiar, podendo causar a morte do indivíduo que os possui. Esses alelos são conhecidos como **alelos letais** e, geralmente, é o alelo recessivo que causa a morte. Alguns deles, além de estarem relacionados à viabilidade do indivíduo, causam alterações fenotípicas que podem ser facilmente detectadas. O primeiro exemplo desse tipo de alelo foi descrito em 1904 por Cuenot. Ele cruzou ratos amarelos x normais e observou, na progênie, uma segregação de 1 amarelo : 1 normal. Esse resultado sugere que o rato amarelo é heterozigótico e que o alelo que condiciona a cor amarela é

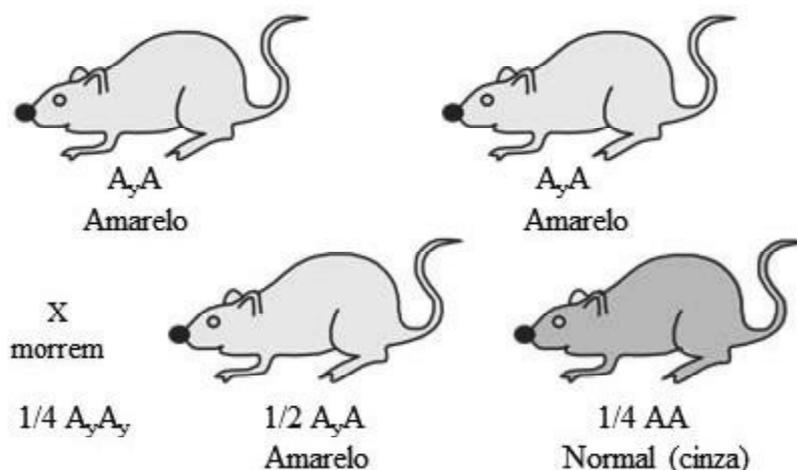
dominante em relação ao normal. Quando foram cruzados ratos amarelos entre si, era esperada uma descendência de 1:2:1, mas obteve-se uma descendência de 2 amarelos: 1 normal. Esses resultados levaram-no a propor que o caráter é controlado por um gene, com dois alelos e que o alelo dominante que condiciona a cor amarela, supostamente é letal quando em homozigose. Chamando de  $A_y$  o alelo que confere pelagem amarela e de  $A$  o alelo que condiciona pelagem normal, a partir do cruzamento de ratos amarelos heterozigóticos  $A_yA$  x  $A_yA$ , a geração F2 teria uma proporção genotípica de  $\frac{1}{4}A_yA_y$ ,  $\frac{1}{2}A_yA$ ,  $\frac{1}{4}AA$  (Figura 6.3, Tabela 6.2). A alteração para a proporção 2:1, era decorrente da morte dos indivíduos  $A_yA_y$ , antes mesmo do nascimento. Desse modo, indivíduos de pelagem amarela são heterozigotos  $A_yA$ , enquanto que indivíduos de pelagem normal são  $AA$ .

A hipótese do alelo  $A_y$  ser letal em homozigose foi confirmada posteriormente quando uma fêmea grávida do cruzamento amarelo x amarelo teve seu útero retirado. Foi verificado que 25% de seus embriões estavam mortos, provavelmente em decorrência da constituição  $A_yA_y$ .

Outro exemplo de alelo letal é encontrado em gatos. Uma única dose do alelo  $ML$ , interfere gravemente no desenvolvimento da coluna dorsal, resultando na falta de cauda no indivíduo heterozigótico  $MLM$ . Mas, no homozigoto  $MLML$ , a dose dupla do alelo produz uma anomalia tão extrema no desenvolvimento da coluna que o embrião não sobrevive.

A maioria dos alelos letais recessivos não se expressam no heterozigoto. Em tal situação, a letalidade recessiva é diagnosticada, observando a morte de 25% da descendência em algum estágio do desenvolvimento.

Um outro exemplo muito comum é a ocorrência de plantas jovens albinas em populações segregantes. Essas plantas são homozigóticas para um alelo que impede a formação de clorofila e sobrevivem até esgotar as reservas nutritivas da semente. Tais plantas são descendentes de heterozigotos portadores do alelo recessivo defeituoso.



**FIGURA 6.3.** resultados do cruzamento de ratos amarelos heterozigóticos.

**TABELA 6.2.** Resultados obtidos por Cuenot para os cruzamentos entre ratos de pelagem amarela e pelagem normal.

Amarelos AyA	x ↓ ½ AyA amarelos ½ AA normais	Normais AA	Amarelos AyA	x ↓ ¼ AyAy morrem ½ AyA amarelos ¼ AA normais	Amarelos AyA
-----------------	--	---------------	-----------------	--	-----------------

### 6.3 INTERAÇÕES NÃO-ALÉLICAS OU GÊNICAS

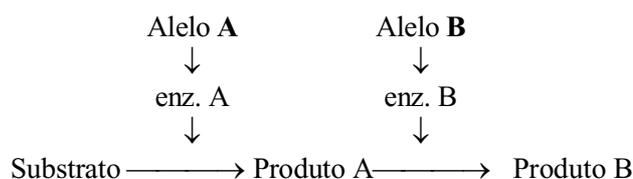
Nem todos os caracteres são controlados por um único gene, como discutido no Capítulo 4. De fato, um grande número de características é controlado por dois ou mais genes e sua expressão fenotípica depende, além da ação e interação alélica, também da ação combinada dos alelos de diferentes genes que recebe a denominação de interação gênica

A ação conjunta de dois ou mais genes independe de suas localizações no genoma da espécie, pois, como serão demonstradas, as interações ocorrem nos produtos gênicos - enzimas que são formados no citoplasma. Assim, dois genes localizados em dois cromossomos diferentes terão distribuição independente (2ª lei de Mendel), embora as proporções Mendelianas sejam modificadas em função da maneira como esses genes se interagem.

Uma forma muito comum de interação gênica é a **epistasia**. Nesse caso, diz-se que o alelo de um gene é **epistático**, quando ele inibe a expressão do alelo de outro gene. Esse último gene, cujo alelo tem a expressão inibida, recebe a denominação de **hipostático**.

Segundo Miller(1997), o termo epistasia pode ser agrupado em três categorias:

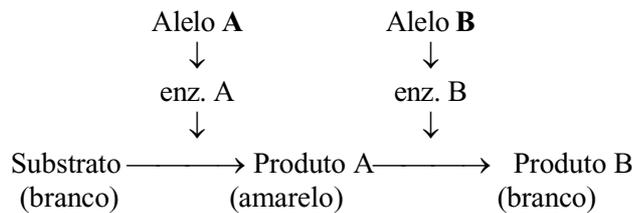
- Epistasia funcional** - quando um gene determina a presença ou ausência de uma determinada estrutura, por exemplo pelos; se não existir pelos, como no caso de um possível mutante em camundongos ou cães, as diferenças de cor não poderiam ser detectadas. Assim, o alelo que controla a produção de pelos seria epistático para o alelo da coloração. Outro exemplo semelhante é o caso de espinhos pretos ou brancos em pepino, que seriam encobertos (hipostático), caso ocorra um mutante sem espinho.
- Bloqueio de um passo metabólico** – quando, em uma rota metabólica, a ausência de um produto evita (inibe) a formação de outros produtos. Por exemplo:



Nesse caso, se o alelo **A** mutar para o alelo **a** a enzima “A” poderá não mais ser produzida e não transforma o substrato em produto A. Por falta desse produto, a rota metabólica estaria bloqueada, não havendo a síntese do produto B. O alelo **A**, é pois, epistático do **B**.

c) **Conversão** - quando o produto do alelo de um gene é convertido em outro produto pelo alelo de outro gene, mascarando a ação ou o produto do primeiro alelo.

Por exemplo:



Nesse caso, o alelo **B** é epistático para o alelo **A**, pois o produto do primeiro gene (produto A) foi convertido em um produto B que confere um fenótipo semelhante àquele expresso pelo acúmulo do substrato.

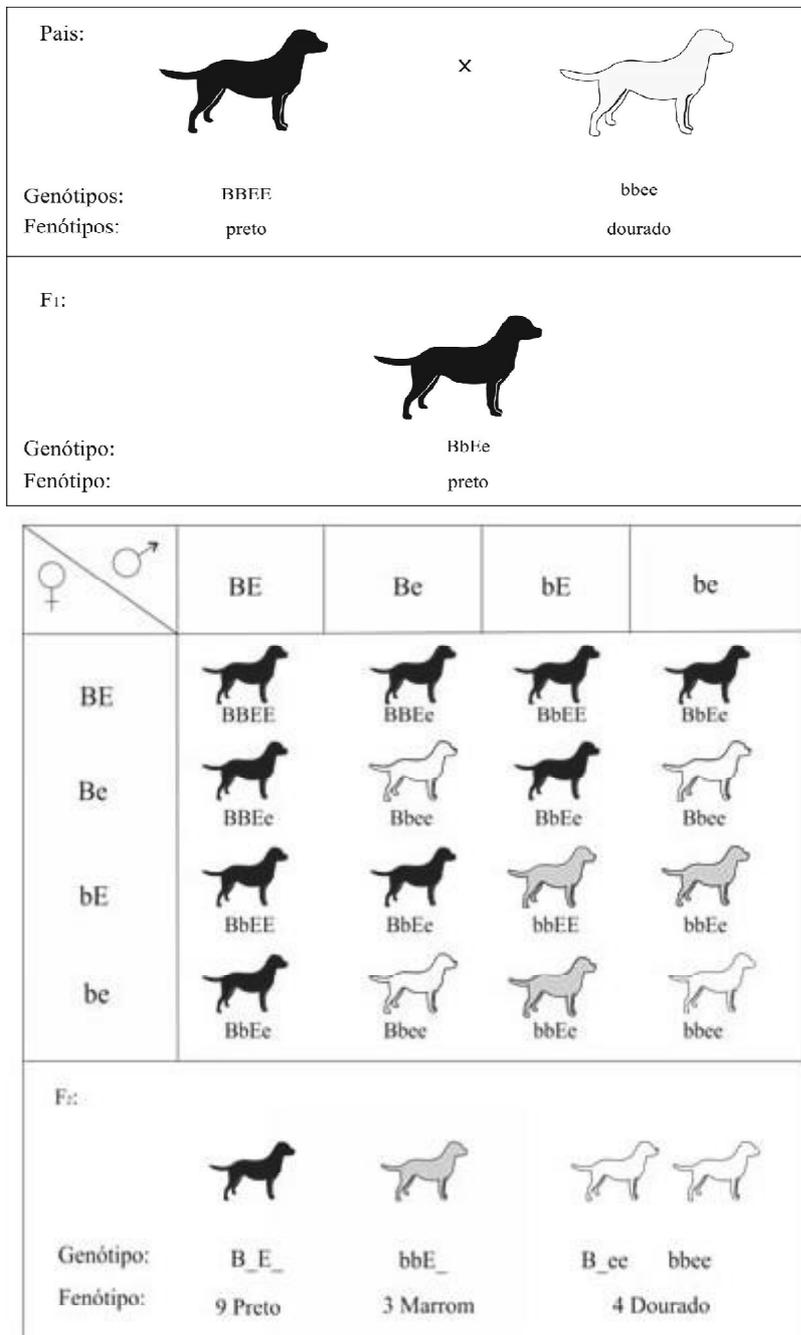
A seguir, são apresentados alguns exemplos mais comuns de epistasia.

### 6.3.1 Epistasia recessiva

A cor da flor em girassol pode ser amarela, alaranjada ou limão. Em determinados cruzamentos, esses fenótipos segregam na  $F_2$ , respectivamente, nas proporções 9:3:4. Essas proporções indicam a atuação de dois genes de distribuição independente, com dois alelos cada. Com base nesses resultados, o controle genético do caráter pode ser explicado pela ação de um alelo dominante **A** de um dos genes, o qual é necessário para que haja a produção de cor, enquanto o recessivo impede a sua formação. Em outro gene, o alelo dominante **B** é responsável pela cor amarela e seu alelo recessivo **b** determina a cor alaranjada. Nesse caso, o alelo **a** é epistático, pois impede a expressão dos alelos **B** e **b**.

Outro exemplo ocorre na cor da pelagem de cães da raça Labrador. As cores preta, marrom e dourado são controladas geneticamente por dois genes **B** e **E** que atuam do seguinte modo: os alelos **B** e **b** produzem, respectivamente, as cores preta e marrom, que são depositadas nos pelos e nas mucosas. Para o gene **E** a constituição recessiva **ee** é epistática ao gene **B**, resultando na coloração dourada dos pelos. Assim, cães pretos são **B\_E\_**, cães marrons são **bbE\_** e cães dourados são **B\_ee** ou **bbee**, resultando em  $F_2$  na segregação 9 pretos:3 marrons:4 dourados (Figura 6.4). Os cães dourados, podem produzir pigmentos pretos ou marrons no nariz e lábios (mucosas). A ação do alelo **e** é evitar a deposição de pigmentos nos pelos não impedindo a deposição nas

mucosas. Dessa forma, podemos reconhecer o animal com alelos recessivos *bbee* pela pigmentação marrom nas mucosas.



**FIGURA 6.4.** Exemplo de epistasia recessiva. Controle genético da cor da pelagem em cães da raça Labrador.

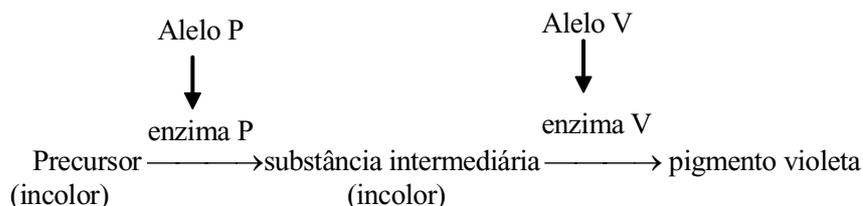
### 6.3.2 Epistasia recessiva dupla

Um estudo realizado no Departamento de Biologia da UFLA visou a conhecer o controle genético da cor do tegumento de algumas cultivares de feijoeiro. Para isso, foram cruzadas duas cultivares, sendo uma a Small White, que possui tegumento branco e flores brancas, e a outra, a ESAL 545, que possui tegumento verde e também flores brancas. Nesse cruzamento, eram esperados descendentes com flores brancas, uma vez que os genitores eram homocigóticos. No entanto, a geração  $F_1$  produziu flores violetas e esse fato inesperado levou-nos a estudar o controle genético desse caráter. Os resultados obtidos encontram-se na Figura 6.5.

Como se observa, as proporções fenotípicas da geração  $F_2$  estão muito próximas de nove plantas com flores violetas para sete plantas com flores brancas ( $\chi^2 = 0,42$ ), indicando a ocorrência de dezesseis combinações genotípicas, decorrentes da segregação e recombinação de dois genes independentes, com dois alelos cada. Considerando também os dados da geração  $F_1$  e dos dois retrocruzamentos pode-se explicar os resultados utilizando a Tabela 6.4.

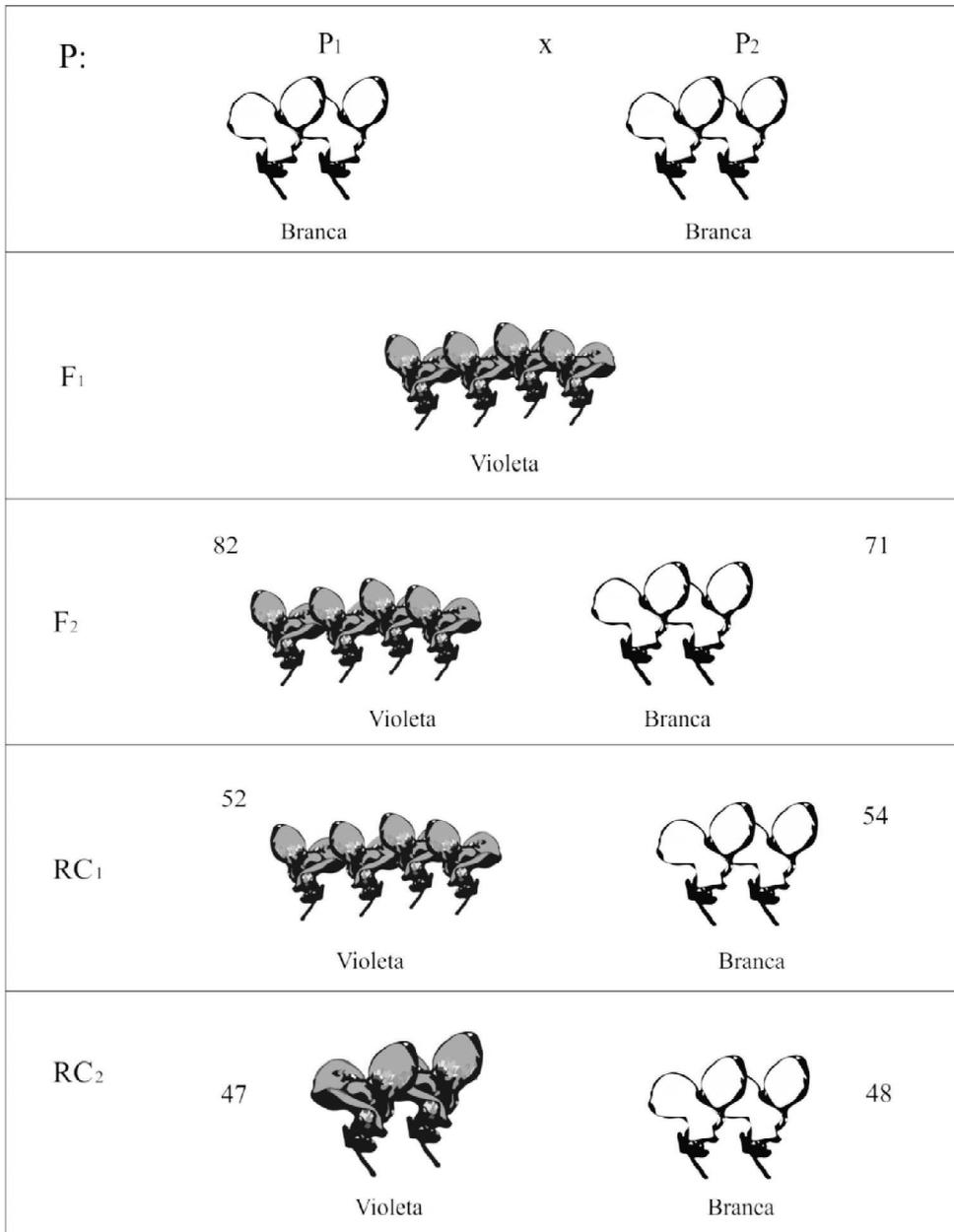
Nesse esquema, as flores violetas ocorrem somente nas plantas com genótipo que possuem pelo menos um alelo dominante em cada loco:  $P\_V\_$ . Nos demais genótipos, a ausência de alelos dominantes, em um ou nos dois locos, condiciona o surgimento de flores brancas.

Sob o ponto de vista bioquímico, uma possível explicação para os resultados observados pode ser esquematizada utilizando, a seguinte via metabólica:



Considerando as quatro classes genotípicas da  $F_2$ , segundo a presença ou ausência dos alelos **P** e **V**, e a via metabólica esquematizada anteriormente, temos a seguinte situação apresentada na Tabela 6.4.

Genética na Agropecuária



**FIGURA 6.5.** Controle genético da cor da flor do feijoeiro.

**TABELA 6.3.** Representação dos genótipos com os respectivos fenótipos, relativos à cor da flor do feijoeiro das cultivares genitoras e de seus descendentes.

P:	Small White - P <sub>1</sub>		ESAL 545 - P <sub>2</sub>
Genótipos:	ppVV	x	PPvv
Fenótipos:	branca		branca
F <sub>1</sub> :		PpVv	
Genótipo:		Violeta	
F <sub>2</sub> :	9/16 P_V_	:	7/16 (P_vv, ppV_, ppvv)
Genótipos:	violeta		branca
Fenótipos:			
RC <sub>1</sub> :	½ PpV_	:	½ ppV_
Genótipos:	violeta		branca
Fenótipos:			
RC <sub>2</sub> :	½ P_Vv	:	½ P_vv
Genótipos:	violeta		branca
Fenótipos:			

**TABELA 6.4.** Presença (+) ou ausência (-) da enzima P, da substância intermediária, da enzima V e do pigmento violeta, nas flores de feijão das quatro classes de genótipos F<sub>2</sub>.

Classes de Genótipos F <sub>2</sub>	Enzima P	Substância intermediária	Enzima V	Pigmento violeta
9/16 P_V_	+	+	+	+
3/16 P_vv	+	+	-	-
3/16 ppV_	-	-	+	-
1/16 ppvv	-	-	-	-

A partir do que foi exposto nessa tabela, verifica-se que entre as dezesseis combinações da F<sub>2</sub>, apenas nove apresentam flor violeta, porque possuem as duas enzimas necessárias para que a via metabólica se complete. Nas demais combinações da geração F<sub>2</sub>, a via metabólica não se completa, pela falta de uma ou das duas enzimas. Portanto, o pigmento violeta é o produto final dessa via metabólica. A sua presença depende da participação conjunta dos alelos dominantes nos dois locos.

Se considerarmos, por exemplo, plantas de constituição **ppV<sub>-</sub>**, elas não produzem o pigmento violeta porque o alelo recessivo **p** não deve produzir uma enzima funcional, o que impede a transformação do precursor na substância intermediária da via metabólica. Nesse caso, diz-se que o alelo **p** é epistático em relação a **V**, porque impede a sua expressão por meio da cor violeta. De modo semelhante, a planta com constituição **P<sub>-</sub>vv** igualmente não produz o pigmento violeta porque o alelo recessivo **v** é, nesse caso, o epistático em relação a **P** também por meio da cor violeta. Portanto, no controle genético da cor da flor do feijoeiro temos um exemplo de epistasia recessiva dupla e na geração  $F_2$ , as classes genotípicas em que estão participando esses epistáticos (3/16 **P<sub>-</sub>vv**; 3/16 **ppV<sub>-</sub>**; 1/16 **ppvv**) sempre produzem o mesmo fenótipo com a frequência de 7/16.

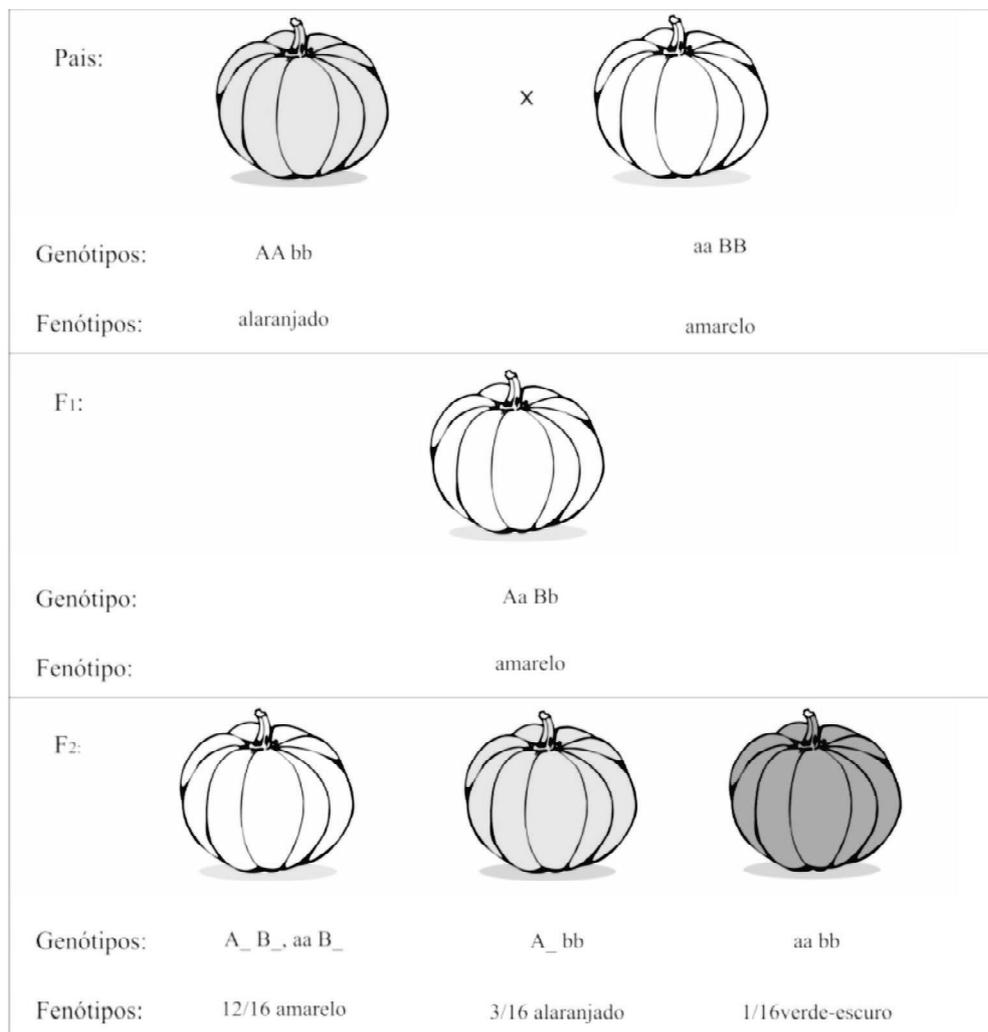
### 6.3.3 Epistasia Dominante

Em abóbora, a coloração do fruto pode ser amarela, alaranjada ou verde-escura. Alguns cruzamentos entre cultivares puras com estas cores de fruto apresentam na geração  $F_2$  uma segregação de 12 amarelos: 3 alaranjados: 1 verde escuro. Esse resultado indica a participação de dois genes com distribuição independente, sendo que ocorre um alelo dominante **A** que é responsável pela cor alaranjada do fruto, enquanto o recessivo **a** simplesmente não produz o pigmento alaranjado e o fruto fica verde-escura. Em outro gene, o alelo dominante **B** bloqueia a formação de clorofila no fruto, o qual fica amarelo, em consequência do impedimento de expressão de **A** e **a**. O recessivo **b** não interfere na expressão de **A** e **a**. Em síntese, ocorre apenas um alelo epistático dominante (**B**) (Tabela 6.5, Figura 6.6).

**TABELA 6.5.** Controle genético das cores do fruto de abóbora.

P:			
Genótipos:	<b>AA bb</b>	x	<b>aa BB</b>
Fenótipos:	alaranjado		amarelo
F <sub>1</sub> :			
Genótipo:	<b>Aa Bb</b>		
Fenótipo:	amarelo		
F <sub>2</sub> :			
Genótipos:	<b>A<sub>-</sub> B<sub>-</sub>, aa B<sub>-</sub></b>	<b>A<sub>-</sub> bb</b>	<b>aabb</b>
Fenótipos:	12/16 amarelo	3/16 alaranjado	1/16 verde-escura

Interação Alélicas e Não-Alélicas



**FIGURA 6.6.** Exemplo de epistasia dominante. Controle genético da coloração do fruto em abóbora.

Em bovinos da raça Angus, a pelagem é preta e na raça Jersey a coloração é chamada preta/vermelha. Os animais obtidos pelo cruzamento dessas duas raças (F<sub>1</sub>) são todos pretos, mas quando inter cruzados produzem uma descendência (F<sub>2</sub>) na qual as proporções fenotípicas são de 12 pretos : 3 pretos/vermelhos : 1 vermelha, caracterizando uma epistasia dominante (Figura 6.7).

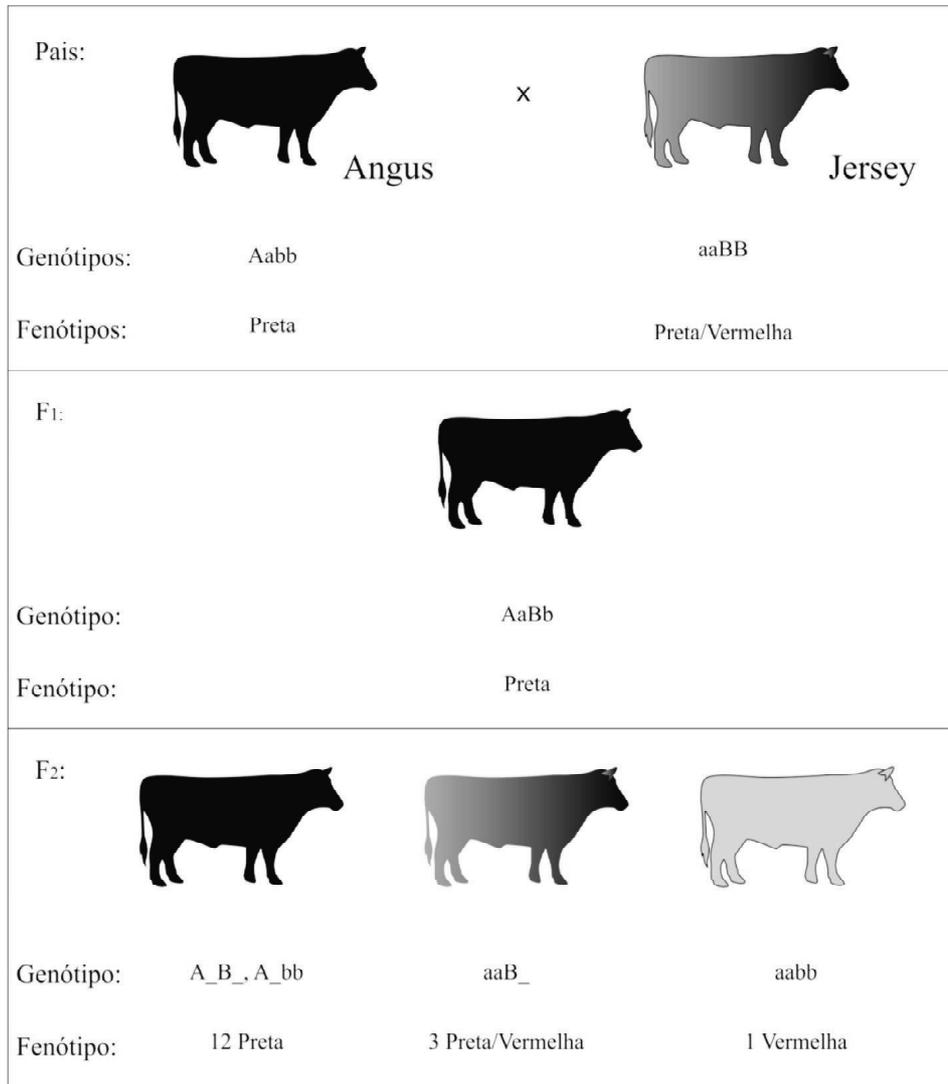


FIGURA 6.7. Controle genético das cores da pelagem em gado bovino.

### 6.3.4 Epistasia Recessiva e Dominante

As raças de galinhas Leghorn e Silkie apresentam plumagem branca. Quando essas aves são cruzadas, as aves da geração F<sub>1</sub> são todas brancas. Porém, na geração F<sub>2</sub>, observa-se, ao contrário do que seria esperado, a ocorrência de algumas aves coloridas entre as brancas. Foi constatado ainda, que do cruzamento de aves coloridas com a raça Leghorn branca, obtém-se uma descendência completamente branca; porém, se no cruzamento é utilizada a raça Silkie branca, na descendência ocorrem aves coloridas. Portanto, deve existir um gene que inibe a expressão da cor nas aves da raça Leghorn.

Considerando que na geração  $F_2$  do cruzamento Leghorn x Silkie branca observam-se as proporções de 13 aves brancas: 3 aves coloridas, pode-se explicar a herança de plumagem branca ou colorida admitindo-se a participação de dois genes de distribuição independente, com dois alelos cada, do seguinte modo: há um alelo **C** necessário para a produção de cor, enquanto o alelo recessivo condiciona a ausência de pigmentação; em outro gene, o alelo dominante **I** é epistático em relação a **C**, inibindo, portanto, sua expressão, e o recessivo **i** determina simplesmente a ausência de inibição. Desse modo, o acasalamento das duas raças brancas referidas anteriormente pode ser representado como no Figura 6.8.

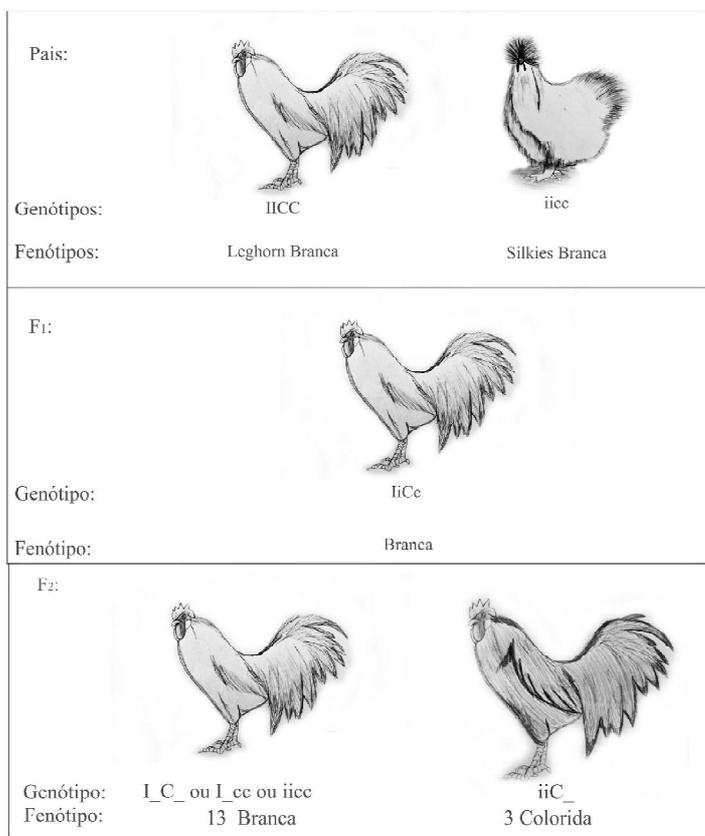
A relação de 13/16 brancas para 3/16 coloridas corresponde, portanto, aos resultados normalmente observados. Nota-se que a plumagem branca com frequência 13/16 em  $F_2$  resulta das classes genotípicas **I\_C\_** e **I\_cc**, em razão da presença do epistático dominante **I** e também do genótipo **iicc**, no qual o alelo **c** é provavelmente não funcional e por isso, não há a produção de pigmentos. Nesse último caso, o alelo **c** pode ser considerado também epistático, uma vez que ele deve interromper uma via metabólica e impedir a produção de um produto final - pigmento. Temos assim, nesse exemplo, um caso de epistasia dominante e recessiva.

O alelo **I** é epistático em relação ao alelo **C**, e o alelo **c** é epistático porque inibe a formação de um produto final.

Um outro exemplo interessante desse tipo de epistasia é verificado com algumas cultivares de arroz, que apresentam um aroma característico quando seus grãos são cozidos ou as folhas verdes são maceradas. Essas cultivares são bem apreciadas em alguns países asiáticos e sua cotação no mercado é superior às cultivares não aromáticas. Tsuzuki e Shimokawa (1990) cruzaram uma cultivar aromática do Nepal, denominada Brimful, com duas outras cultivares japonesas não-aromáticas e obtiveram na geração  $F_2$  o resultado apresentado na Tabela 6.6.

Os resultados observados se ajustam a uma distribuição de 13 plantas sem aroma : 3 com aroma, indicando que a presença de aroma é decorrente do genótipo **aa B\_** e a ausência de aroma, aos genótipos **A\_ B\_** ou **A\_ bb** ou, ainda, **aa bb**.

## Genética na Agropecuária



**FIGURA 6.8.** Exemplo de epistasia recessiva e dominante. Controle genético da cor da pena em galinhas das raças Leghorn e Silkie.

**Tabela 6.6.** Resultados observados na geração F<sub>2</sub> envolvendo cultivares de arroz não aromáticas e aromáticas.

Cruzamentos	Sem aroma	Com aroma	Total
Brimful x Koshihikari	240	62	302
Brimful x Nipponbare	157	34	191

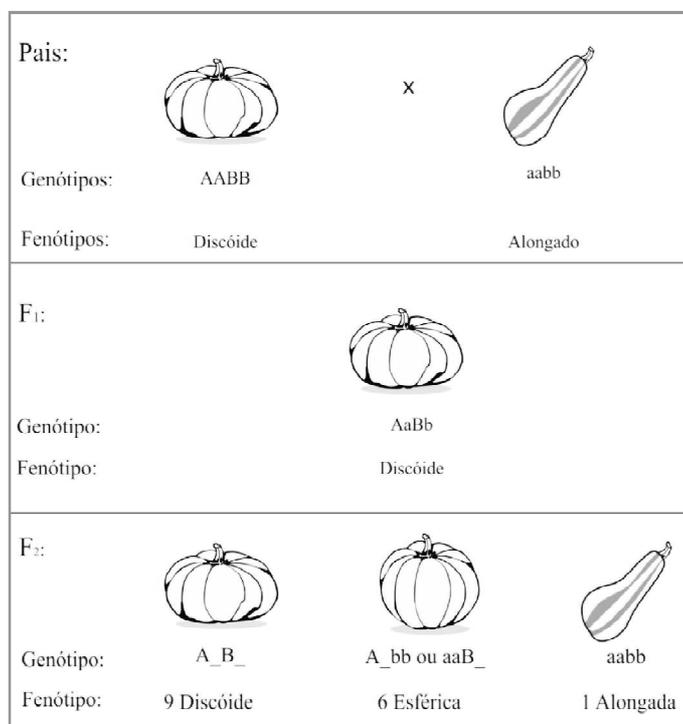
### 6.3.5 Outros tipos de interações não-alelicas

Além dos exemplos de epistasias já apresentados, ocorrem inúmeras outras formas de interações gênicas, que não necessariamente implicam em bloqueio de vias metabólicas, conversões ou mesmo alterações estruturais. Um dos exemplos mais conhecidos é aquele denominado de **genes duplicados**. Nesse caso, genes com funções idênticas podem estar representados mais de uma vez no genoma, alterando as proporções mendelianas esperadas. Um interessante exemplo ocorre com uma planta do cerrado denominada de bolsa do pastor.

Os frutos dessa planta podem ser triangular ou alongado. Quando cruza-se uma planta com fruto triangular com uma de fruto alongado, obtém-se a segregação em  $F_2$  de 15 triangular : 1 alongado. Isso é explicado considerando a presença de dois genes **A** e **B**, com efeitos iguais. Os alelos dominantes de cada um desses genes, sozinhos ou combinados, conferem o mesmo fenótipo, frutos triangulares, já o genótipo **aabb** é o único responsável pelo fruto alongado.

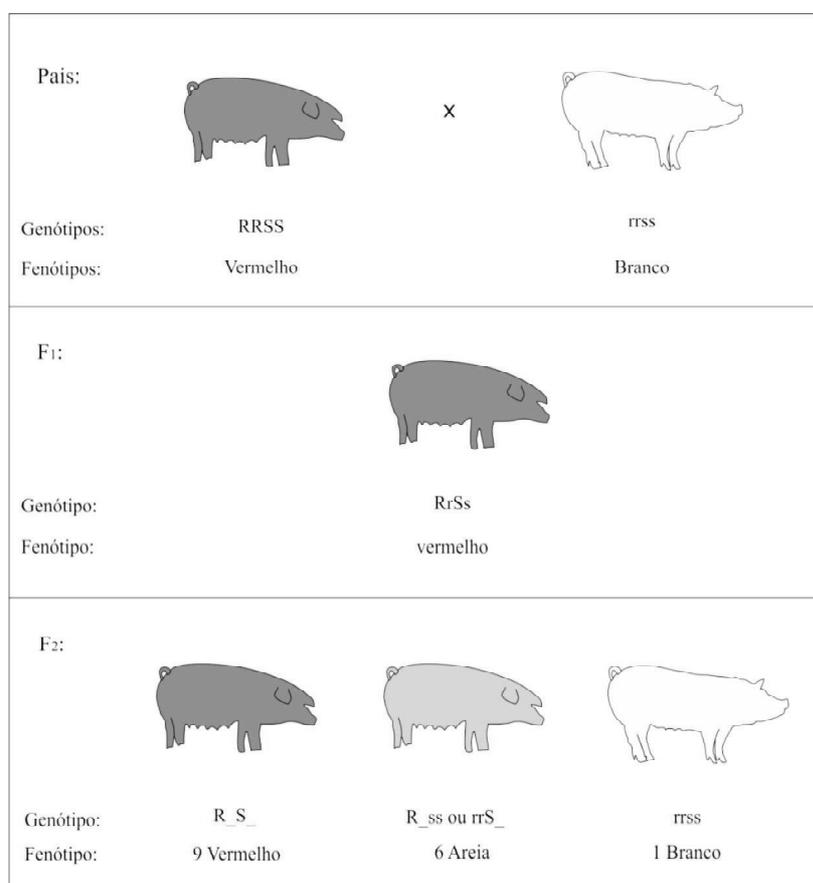
Um outro exemplo semelhante ocorre em soja. Em um dos genes o alelo dominante **G** produz sementes verdes e o recessivo **g** sementes amarelas. Em outro gene, o alelo dominante **Y<sub>3</sub>** resulta em sementes verdes e o alelo recessivo **y<sub>3</sub>** sementes amarelas. Na geração  $F_2$  a segregação fenotípica é de 15 verdes (**G\_ Y<sub>3</sub>\_**, **G\_ y<sub>3</sub>y<sub>3</sub>**, **gg Y<sub>3</sub>\_**) : 1 amarela (**gg y<sub>3</sub>y<sub>3</sub>**).

Uma outra forma de interação também envolvendo genes duplicados, é aquela pela qual aparece um terceiro fenótipo, resultante da presença simultânea de alelos dominantes de cada um dos genes envolvidos. Por exemplo, em abóbora o formato esférico é controlado pelo alelo **A** ou pelo alelo **B** enquanto que o formato alongado deve-se aos alelos **a** ou **b**. Assim, os genótipos **A\_ bb** e **aa B\_** conferem frutos esféricos e **aa bb** frutos alongados. Quando os alelos dominantes dos dois genes estão juntos, **A\_ B\_**, eles se interagem para produzir o formato discóide. Desse modo, na geração  $F_2$  a segregação é de 9 discóides (**A\_ B\_**) : 6 esféricos (**A\_ bb** e **aa B\_**) : 1 alongado (**aa bb**). Esse tipo de interação é conhecido como **genes duplicados com interação entre os alelos dominantes** (Figura 6.9).



**FIGURA 6.9.** Exemplo de genes duplicados com interação entre os alelos dominantes. Controle genético do formato do fruto da abóbora.

Uma situação semelhante a essa é a que ocorre com a cor da pelagem das raças de suínos Large White e Duroc Jersey. Os alelos **R** ou **S** são responsáveis pela síntese de pigmentos vermelhos, enquanto que **r** ou **s** conferem coloração branca. Indivíduos com alelos dominantes em apenas um dos genes (**R\_ ss** ou **rrS\_**) produzem uma pequena quantidade de pigmentos vermelhos e adquirem uma coloração “areia”. Indivíduos completamente recessivos (**rrss**) são brancos e indivíduos com alelos dominantes nos dois genes (**R\_S\_**) são de coloração vermelho intenso. A segregação na geração  $F_2$  é de 9 vermelhos : 6 areia : 1 branco.



**FIGURA 6.10.** Exemplo de genes duplicados com interação entre os alelos dominantes. Controle genético da cor da pelagem das raças de suínos Large White e Duroc Jersey.

Em galinhas, o formato da crista apresenta uma maneira bem interessante de interação. O alelo dominante **R** controla crista rosa, o alelo dominante **P** crista ervilha e os alelos recessivos **rr pp** crista simples. Quando os alelos dominantes dos dois genes estão juntos **R\_P\_** a crista é do tipo noz. Assim, na geração  $F_2$  a segregação é de 9 Noz (**R\_P\_**) : 3

Rosa ( $R\_pp$ ) : 3 Ervilha ( $rrP\_$ ) : 1 Simples ( $rrpp$ ). Note que, embora a segregação seja de 9:3:3:1, esta situação difere da segregação mendeliana típica, por se tratar de apenas um caráter, ao invés de dois caracteres controlados por genes independentes.

#### 6.4 AUMENTANDO A COMPLEXIDADE

Como pode ser observado pelos exemplos discutidos, todo organismo é um ser complexo no qual todos os genes devem funcionar coordenadamente e apresentar interações em maior ou menor grau. É pouco provável que um determinado gene atue isoladamente.

Um outro aspecto que deve nos chamar a atenção é que, em muitos casos, o “caráter” que se está estudando, de fato consiste de diversos caracteres, cada um controlado por genes específicos. Assim, as diversas expressões fenotípicas desse “caráter” na verdade se devem a esses inúmeros genes. Um exemplo ilustrativo é a coloração dos grãos do feijoeiro. Aparentemente, trata-se de um único caráter, mas se estudado em profundidade, veremos que pode ser decomposto em cor do tegumento, presença ou não de listras, presença ou não de pintas, cor do halo, brilho do tegumento, etc. Embora a coloração do grão seja “um caráter” cujo controle é efetuado por muitos genes (supõe-se mais de 18 genes), vamos considerar apenas 5 genes para ilustrar este ponto. O alelo dominante **P** é básico para a expressão da cor; todos os indivíduos **pp** apresentam tegumento branco. Contudo, a expressão da cor propriamente dita se deve a outros genes. O alelo dominante **L** é responsável pela formação de listras em presença de **P**. O genótipo **ll** não apresenta listras, independentemente da constituição para o gene **P**. Um outro gene condiciona a coloração do halo, embora a definição da sua coloração seja realizada por outros genes, como por exemplo o alelo **D** que condiciona halo marrom. O alelo dominante **J** confere grãos brilhantes, enquanto o recessivo **j** grãos foscos. Pode-se observar que, considerando apenas uma pequena porção dos genes envolvidos com a coloração, o número de fenótipos possíveis é extremamente grande.

Situação semelhante ocorre para o “caráter” coloração de pelagem de mamíferos, que também é composto por vários padrões de coloração, envolvendo a coloração de cada pelo, como também a distribuição desses pelos no corpo do indivíduo. O controle genético, embora ainda não completamente elucidado, é realizado por, pelo menos, 6 genes (**A, B, C, D, E, S**). Um aspecto interessante é que esses seis genes parecem estar presentes em todos os mamíferos, embora nem sempre eles apresentem todos os alelos conhecidos em cada loco. A coloração se deve à presença de grânulos de pigmentos contendo melaninas em uma matriz protéica. As melaninas são o produto de uma série de vias metabólicas que convertem a tirosina em eumelaninas (cor escura) ou feomelaninas (cor clara). As células em que ocorrem a produção das melaninas são os melanócitos e os grânulos de pigmentos são os eumelanossomas ou feomelanossomas.

O gene **A** (Aguti): esse gene determina a distribuição de pigmentos no pelo. O alelo **A** - selvagem - produz uma faixa amarela terminal ou subterminal em um pelo que seria totalmente preto (**aa**). Dependendo do alelo presente, a coloração do pelo pode variar desde completamente amarelo até todo negro.

O gene **B**: os alelos desse gene afetam a porção protéica dos grânulos de pigmentos alterando sua forma. O alelo **B** permite a formação de grânulos normais, alongados e de cor negra. O alelo **b** produz grânulos ovóides ou esféricos que são marrons, chocolates ou, no caso de cavalos, castanhos.

O gene **C**: parece que este é o gene estrutural da enzima tirosinase, que catalisa o primeiro passo da conversão de tirosina em melanina. O alelo **C** produz tirosinase normal, enquanto que os demais alelos produzem formas menos eficientes da enzima, havendo redução no número de grânulos de pigmentos. O alelo recessivo **c** evita a formação de qualquer coloração (gene epistático), gerando indivíduos albinos.

O gene **D**: os alelos do gene **D** afetam a intensidade da pigmentação por meio da aglutinação dos grânulos, mas não pela redução de seu número. O alelo **d** dilui o negro em azul e o amarelo em creme. O alelo **D** é dominante na maioria dos mamíferos, mas em cavalos parece haver dominância incompleta.

O gene **E**: esse gene parece ter influência na distribuição de pigmentos amarelos e pretos em toda a pelagem do animal e não dentro de cada pelo.

O gene **S**: o gene **S** também controla a distribuição de pigmentos ao longo do corpo do indivíduo. De fato, ele controla a presença (**ss**) ou ausência (**S\_**) de manchas. Esse padrão pode ocorrer com qualquer combinação genotípica discutida anteriormente, com exceção do albino.

Um outro exemplo de genes com ação característica são os chamados modificadores. Esses genes geralmente não têm efeito próprio, mas modificam outros genes, reduzindo ou intensificando sua expressão. O gene **D**, que ocorre em muitos mamíferos, afeta a intensidade de pigmentação de outros genes que controlam a cor da pelagem. Os genótipos **DD** e **Dd** permitem a expressão completa da coloração, enquanto que **dd** dilui a coloração tornando-a mais clara. Assim, se o alelo **B** confere pelagem preta e **b** pelagem marrom os genótipos **B\_D\_** seriam pretos, **B\_dd** seriam preto-diluído, **bbD\_** marrons e **bbdd** marrom claro, apresentando uma segregação de 9:3:3:1 na geração  $F_2$ .

Um exemplo semelhante em plantas é o que ocorre para a cor dos frutos maduros em pimentões. Um alelo dominante **Y** controla a remoção da clorofila no fruto, enquanto o alelo **y** permite que a clorofila se mantenha no fruto maduro. À medida que o fruto amadurece, pigmentos carotenóides são sintetizados; o alelo **R** determina pigmentos vermelhos e **r** pigmentos amarelos. Os alelos recessivos de dois genes diferentes **c<sub>1</sub>** e **c<sub>2</sub>** têm uma ação semelhante e reduzem a quantidade de carotenóides que são sintetizados. Por exemplo, plantas **Y\_R\_C<sub>1</sub>C<sub>2</sub>** produzem frutos vermelhos, enquanto **y\_R\_c<sub>1</sub>c<sub>2</sub>** apresentam frutos



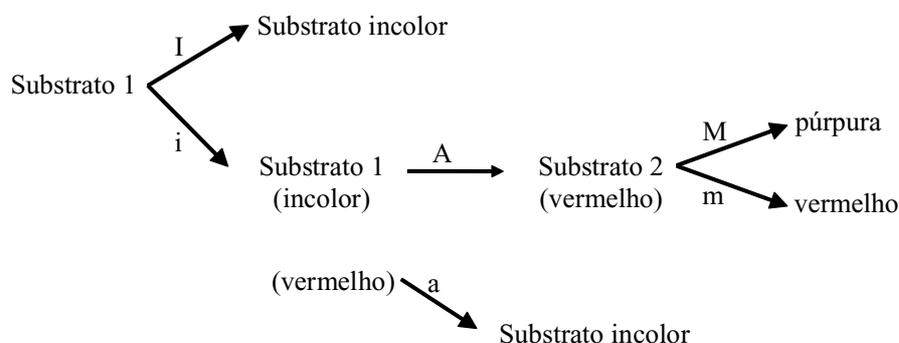
Interação Alélicas e Não-Alélicas

alaranjados. Plantas  $Y\_rrC_1-C_2-$  apresentam frutos amarelos, enquanto  $Y\_rrC_1-c_2c_2$  frutos amarelo-claros. Os dois genes  $C_1$  e  $C_2$  são genes duplicados, com efeitos semelhantes. Porém, seus efeitos são cumulativos, de modo que o genótipo  $c_1c_2c_2$  praticamente impede a síntese de carotenóides. Desse modo, o genótipo  $Y\_rrc_1c_2c_2$  é praticamente branco.

### PROBLEMAS PROPOSTOS

1. Em galinhas, os indivíduos com penas normais são de genótipo  $ff$ , os indivíduos  $FF$  apresentam penas acentuadamente onduladas e quebradiças e o heterozigoto apresenta as penas medianamente onduladas. A partir do cruzamento de um galo com penas medianamente onduladas com três fêmeas, foram produzidos 12 descendentes por ninhada. Dos 36 descendentes, 18 apresentaram penas medianamente onduladas, 15 penas acentuadamente onduladas e apenas 3 foram normais. Quais os prováveis genótipos das três fêmeas?
2. Em bovinos, a presença de chifres é governada pelo alelo recessivo  $m$ , enquanto o alelo dominante  $M$  confere ausência de chifres (mocho). A cor da pelagem vermelha é fornecida pelo genótipo  $RR$ , cor branca por  $rr$  e vermelho-branco (ruão) por  $Rr$ .
  - a) Determine a proporção fenotípica de  $F_2$  proveniente do cruzamento de um touro vermelho, com chifres, com vacas brancas e mochas, homozigóticas.
  - b) Quantos animais da geração  $F_2$  serão necessários para se selecionar 20 animais homozigóticos de pelagem vermelha e mochos?
  - c) Qual a proporção fenotípica esperada se os animais ruões e mochos da geração  $F_2$  forem acasalados entre si?
3. No estudo da herança da forma da raiz do rabanete, e também da cor da raiz, obteve-se na  $F_2$  a seguinte proporção fenotípica: 11 vermelhos e esféricos; 20 vermelhos e ovais; 9 vermelhos e alongados; 21 rosas e esféricos; 39 rosas e ovais; 19 rosas e alongados; 10 brancos e esféricos; 22 brancos e ovais e 11 brancos e alongados.
  - a) Quais as interações alélicas para os dois caracteres?
  - b) Esse tipo de interação facilita ou dificulta o trabalho melhorista?
  - c) Quais os genótipos dos genitores para possíveis cruzamentos que produziram a  $F_2$  fornecida?
  - d) Qual o tamanho da  $F_2$  para se obter 50 plantas com raiz branca e alongada?
4. Em abóbora, a cor do fruto pode ser branca, amarela e verde. Do cruzamento de plantas homozigóticas de frutos brancos com plantas de frutos verdes foi obtida uma geração  $F_1$  com todos os indivíduos de frutos brancos. Na geração  $F_2$ , foram obtidas 45 plantas com frutos brancos, 13 com frutos amarelos e 3 com frutos verdes.
  - a) Qual a explicação para a herança desse caráter?

- b) Cruzando-se uma planta de frutos amarelos com outra de frutos brancos obtiveram-se 27 plantas com frutos brancos, 16 com frutos amarelos e 16 com frutos verdes. Quais os genótipos das duas plantas que foram cruzadas?
5. Do cruzamento entre duas linhagens de ervilha de cheiro (*Lathyrus odoratus*) de flores brancas foram obtidas plantas com 100% de flores de cor púrpura. Dos 245 descendentes provenientes da autofecundação dessas plantas, 110 apresentaram flores brancas e os demais flores púrpuras. Determine o tipo de herança do caráter e o provável genótipo dos genitores.
6. Em algumas cultivares de cebola, a cor do bulbo pode ser amarela, roxa ou branca. Do cruzamento entre uma cultivar de cor roxa com outra de cor branca, foi obtido na geração  $F_2$  a segregação de 9 roxos: 3 amarelos: 4 brancos.
- a) Qual a explicação genética para esse resultado?  
b) Estabeleça um esquema que explique bioquimicamente esse resultado.
7. O grão de milho possui uma camada de células que encobre o endosperma, chamada aleurona, e que pode ser incolor, vermelha ou púrpura. A formação destes fenótipos é controlada pelos seguintes passos metabólicos:



Admitindo-se que ocorra dominância completa em todos os genes, pergunta-se:

- a) Quais os fenótipos dos seguintes genótipos?  
IiAAMm; IiaaMM; IIAAmm; iiAAMM; iiAAmm.
- b) Quais as proporções fenotípicas em  $F_2$  do cruzamento entre duas plantas sendo uma de genótipo IIAAMM e a outra de genótipo iiaamm?

8. Do cruzamento de uma planta A com uma B, de feijão, foram obtidos 510 descendentes de flores brancas e 176 de flores púrpuras. Quando a planta A foi autofecundada ela produziu 76 descendentes com flores púrpuras e 58 com flores brancas.
- Quais os genótipos das plantas A e B?
  - Quais as proporções genotípicas e fenotípicas esperada da planta B quando ela for autofecundada?
9. No caupi, um alelo  $C^1$  é responsável pela resistência à raça 1 de ferrugem e seu alelo  $C^2$ , resistente à raça 2. Plantas  $C^1C^2$  são resistentes às duas raças. A altura da planta se deve à ação de 2 genes, sendo A-B- e A-bb responsáveis por planta alta, aaB- responsável por planta com altura média e aabb, planta baixa. O cruzamento entre uma planta alta e resistente às duas raças com outra baixa e também resistente às duas raças forneceu o seguinte resultado: 340 altas e resistentes à raça 1; 570 altas e resistentes às duas raças; 280 altas e resistentes à raça 2; 80 médias e resistentes à raça 1; 155 médias e resistentes às duas raças; 72 médias e resistentes à raça 2; 27 baixas e resistentes à raça 1; 47 baixas e resistentes às duas raças; 29 baixas e resistentes à raça 2.
- Quais os genótipos das plantas que foram cruzadas?
  - Quais os tipos de interações envolvidas em cada caráter?
10. Em galinhas, observaram-se os seguintes resultados para cor de plumagem a partir dos cruzamentos entre as raças Wyandotte branca, W, Leghorn branca, L e Silkie branca, S: o cruzamento das raças W x L produziu em  $F_1$  100% branco e em  $F_2$  a proporção fenotípica dos descendentes foi de 13 brancos: 3 coloridos. No cruzamento W x S, o  $F_1$  foi também 100% colorido, porém na  $F_2$  foram produzidos 9 coloridos: 7 brancos.
- Forneça as explicações genéticas para os resultados obtidos.
  - Quais as proporções fenotípicas esperadas, nas gerações  $F_1$  e  $F_2$ , do cruzamento L x S?

# 7 BIOMETRIA

## 7.1 INTRODUÇÃO

**Biometria** é uma ciência “híbrida” entre a biologia e estatística. Ela tem como objetivo aplicar a estatística aos dados de natureza biológica. Com a biometria é possível testar hipóteses formuladas e conseqüentemente facilitar as interpretações dos fenômenos biológicos.

A aplicação da biometria na genética começou com o próprio Mendel. Aliás, essa foi a sua contribuição mais expressiva. Ele foi capaz de estabelecer proporções fenotípicas a partir de suas observações sobre as características da ervilha, e a partir dessas proporções formular hipóteses que pudessem explicar os resultados obtidos.

## 7.2 LEIS DE PROBABILIDADE

A probabilidade de ocorrência de um evento é dada pelo número esperado de vezes que esse evento ocorra em relação ao número total de eventos. Para ilustrar as inúmeras aplicações da probabilidade em genética, será considerado como exemplo a determinação do sexo em bovinos (Capítulo 11). Em bovinos, o touro - sexo masculino - possui os cromossomos sexuais X e Y e a vaca - sexo feminino - os cromossomos XX. Portanto, na meiose de um touro são produzidos dois tipos de gametas, um contendo o cromossomo X e o outro Y; já, a vaca produz apenas gametas com o cromossomo X. Sendo assim, quem determina o sexo do descendente é o touro. Como a proporção dos gametas masculinos contendo o cromossomo X - do touro - é de 50% e contendo Y também é 50%, é fácil entender que a probabilidade de que qualquer descendente seja fêmea ou macho é 1/2.

Os conhecimentos sobre meiose (Capítulo 4), mostram que a fertilização para produzir qualquer descendente, não tem nenhuma relação com outra. Em outras palavras, se uma vaca obtiver vários descendentes, a produção de cada um deles é um evento inteiramente independente, isto é, o sexo de um descendente não tem relação alguma com o sexo dos demais. Sendo assim, pode-se indagar qual será a probabilidade de que uma vaca tenha dois descendentes, ambos do sexo feminino? Considerando que, em cada gestação, a probabilidade

de ser fêmea é de  $1/2$ , a probabilidade de ambas serem fêmeas é dada por  $1/2 \cdot 1/2 = 1/4$ . Isto é conhecido como **Lei do Produto das Probabilidades**, que diz “A probabilidade de ocorrência simultânea de dois ou mais eventos independentes é igual ao produto das probabilidades de suas ocorrências em separado”.

Consideremos ainda, como ilustração, um rebanho bovino com cem vacas, tendo cada uma delas dois descendentes, cuja distribuição dos sexos está apresentada na Tabela 7.1.

**TABELA 7.1.** Distribuição dos dois descendentes de cada uma das 100 vacas de acordo com o sexo.

Número de vacas	Sexo dos descendentes
24	duas fêmeas
54	uma fêmea e um macho
22	dois machos

Estão esses resultados de acordo com o esperado, baseado nas leis de probabilidades? Como foi mostrado, a probabilidade dos dois descendentes serem do sexo feminino é dada por  $1/2 \cdot 1/2 = 1/4$ . De modo análogo a probabilidade de ambos serem do sexo masculino é também  $1/2 \cdot 1/2 = 1/4$ . Por outro lado, a probabilidade do primeiro ser do sexo feminino e o segundo do sexo masculino é também  $1/2 \cdot 1/2 = 1/4$ . Porém, aqui pode também ocorrer o contrário, isto é, o primeiro descendente ser macho e o segundo ser fêmea, cuja probabilidade é também  $1/2 \cdot 1/2 = 1/4$ . Assim, existem duas opções de nascimento dos bezerros dos dois sexos com a probabilidade de  $1/4$  cada. Nota-se que, nesse caso, os dois eventos são mutuamente exclusivos, ou alternativos. Isso significa que, se ocorrer a primeira situação - fêmea-macho -, a segunda - macho-fêmea - não tem condições de ocorrer simultaneamente. Nessa situação, tem-se o que se denomina de Segunda Lei de Probabilidade ou **Lei da Soma das Probabilidades**, que diz: “Quando dois eventos são mutuamente exclusivos, a probabilidade de que eles ocorram é fornecida pela soma das probabilidades de que cada um deles ocorra em separado”. No exemplo, a probabilidade será  $1/4$  (fêmea-macho) +  $1/4$  (macho-fêmea) =  $1/2$ .

Desse modo, considerando as cem vacas, obtêm-se as estimativas do número esperado de vacas em função do sexo dos dois descendentes de cada uma (Tabela 7.2).

Como se constata, os resultados observados e os esperados baseados nas leis de probabilidade são muito semelhantes.

**TABELA 7.2.** Distribuição observada e esperada dos dois descendentes de cada uma das 100 vacas de acordo com o sexo.

Número de vacas observadas	Sexo dos descendentes	Probabilidade de ocorrência do evento	Número esperado de vacas baseado na probabilidade de ocorrência
24	duas fêmeas	1/4	25
54	Uma fêmea e um macho	1/2	50
22	dois machos	1/4	25
TOTAL 100			100

## 7.3 DISTRIBUIÇÃO DE PROBABILIDADE

### 7.3.1 Distribuição Binomial

Em genética, além de se conhecer a probabilidade de que um determinado evento ocorra, há necessidade, na maioria dos casos, de se identificar a probabilidade de que determinadas combinações de eventos possam ocorrer. Nesse caso, trata-se de um binômio porque existem apenas dois eventos, por exemplo, macho ou fêmea, semente de milho lisa ou enrugada.

Como exemplo, será utilizada também a determinação do sexo em bovinos. Seja o rebanho mencionado anteriormente com cem vacas, só que agora será considerado que cada vaca pode ter seis descendentes em sua vida. A partir dessa informação, muitas perguntas poderiam ser formuladas, como, por exemplo, qual a probabilidade de que cada vaca tenha pelo menos quatro descendentes do sexo feminino? Qual a probabilidade de que pelo menos um descendente de cada vaca seja do sexo masculino? Essas e muitas outras indagações podem ser facilmente respondidas a partir da expansão do binômio. Vejamos agora como isso pode ser feito.

No caso anterior, com dois descendentes, as combinações possíveis são fornecidas pelo desenvolvimento da expressão  $(a + b)^2 = a^2 + 2ab + b^2$ , em que  $a$  representa o evento fêmea,  $b$  o evento macho e o **expoente dois** representa o número de descendentes envolvidos, isto é, dois descendentes. A probabilidade de ocorrência do evento **a** - fêmea - é dada por  $p$  e a probabilidade de ocorrência do evento **b** - macho - é dada por  $q$ . Nesse caso,  $p = q = 1/2$ . Desse modo, a probabilidade de se ter duas fêmeas ( $a^2$ ) ou dois machos ( $b^2$ ) =  $(1/2 \cdot 1/2 = 1/4)$  para cada combinação. E a probabilidade de se ter um macho e uma fêmea  $2ab = 2 \cdot 1/2 \cdot 1/2 = 1/2$ . Ou seja, o mesmo resultado mostrado na Tabela 7.2.

Para  $n$  eventos independentes, a expansão do binômio é fornecida por:

$$(a + b)^n = \sum_{i=0}^n C_n^i a^{n-i} b^i = \sum_{i=0}^n \frac{n!}{w!x!} p^w q^x \text{ em que:}$$

$C_n^i$  corresponde à combinação de  $n$  eventos  $i$  a  $i$ , isto é, fazendo  $n - i = w$  e  $i = x$ , tem-se que

$$C_n^i = C_n^x = \frac{n!}{x! w!}$$

No caso em pauta,  $n$  corresponde ao número de descendentes ou número total de eventos;  $w$  é o número de vezes que ocorre o evento  $a$  - o número de fêmeas, por exemplo - e;  $x$  é o número de vezes que ocorre o evento  $b$  - no caso, o número de machos. A probabilidade de ocorrência de cada um dos eventos é  $p$  e  $q$ .

Considerados os seis descendentes,  $w$  e  $x$  poderiam assumir os seguintes valores:

Número de Fêmeas (w)	Número de Machos (x)
6	0
5	1
4	2
3	3
2	4
1	5
0	6

Pelo exposto anteriormente, para se ter 6 fêmeas, a probabilidade é de  $(1/2)^6$ , já que os eventos são independentes. Quando se considera, por outro lado, a probabilidade de se ter 5 fêmeas - **F** - e 1 macho - **M** -, deve-se considerar que estão envolvidas várias alternativas, as quais podem ser esquematizadas do seguinte modo:

Ordem dos descendentes						Probabilidade de ocorrência
1°	2°	3°	4°	5°	6°	
M	F	F	F	F	F	$(1/2)^6$
F	M	F	F	F	F	$(1/2)^6$
F	F	M	F	F	F	$(1/2)^6$
F	F	F	M	F	F	$(1/2)^6$
F	F	F	F	M	F	$(1/2)^6$
F	F	F	F	F	M	$(1/2)^6$

Assim, o descendente do sexo masculino pode ser o primeiro, o segundo, o terceiro, o quarto, o quinto ou o sexto descendente. Portanto, os eventos são mutuamente exclusivos – segunda lei de probabilidade. Dessa forma, a probabilidade de se ter um macho e cinco fêmeas é dada pela soma das probabilidades de cada um dos eventos em separado, isto é,  $6 (1/2)^6$ .

Por meio da expansão do binômio, é muito fácil chegar a este e aos demais resultados. Neste caso  $n = 6$ , se for considerada a primeira situação, ou seja, de todos serem fêmeas tem-se:

$p = q = 1/2$   
 $n = 6$  descendentes  
 $w = 6$  fêmeas  
 $x = 0$  machos  
 pelo binômio

$$\frac{n!}{w!x!} p^w q^x = \frac{6!}{6!0!} (1/2)^6 \cdot (1/2)^0 = (1/2)^6$$

como foi mostrado.

A probabilidade de se ter um macho e cinco fêmeas é de:

$p = q = 1/2$   
 $n = 6$  descendentes  
 $w = 5$  fêmeas  
 $x = 1$  macho

$$\frac{n!}{w!x!} p^w q^x = \frac{6!}{5!1!} (1/2)^5 \cdot (1/2)^1 = 6(1/2)^6$$

Do mesmo modo, têm-se as demais probabilidades mostradas na Tabela 7.3. Observe-se que é possível obter a probabilidade desejada para cada evento e até mesmo estimar o número esperado de vacas que produz uma determinada descendência.

**TABELA 7.3.** Distribuição de probabilidades dos seis descendentes de cada uma das cem vacas de acordo com o sexo.

Número de fêmeas	Número de machos	Probabilidade (P)	Frequência esperada entre 100 vacas
6	0	$(1/2)^6 = 0,015625$	1,56
5	1	$6(1/2)^6 = 0,093750$	9,38
4	2	$15(1/2)^6 = 0,234375$	23,43
3	3	$20(1/2)^6 = 0,312500$	31,25
2	4	$15(1/2)^6 = 0,234375$	23,43
1	5	$6(1/2)^6 = 0,093750$	9,38
0	6	$(1/2)^6 = 0,015625$	1,56
Total		1,000000	100,00

Voltemos, no entanto, à indagação formulada inicialmente. Qual a probabilidade de que pelo menos quatro descendentes de cada vaca sejam do sexo feminino? O desejado é que se tenha pelo menos quatro fêmeas, então os casos possíveis são aqueles com 4, 5 e 6 fêmeas. Sendo assim, basta somar as probabilidades de cada um destes eventos, uma vez que eles são mutuamente exclusivos. No caso considerado, tem-se:  $P(4 \text{ fêmeas}) + P(5 \text{ fêmeas}) + P(6 \text{ fêmeas}) = 0,234375 + 0,09375 + 0,015625 = 0,343750$ . Pelo exposto, a probabilidade de se ter pelo menos 4 fêmeas é de 0,34375, ou seja, entre as cem vacas, espera-se que 34,4 tenham pelo menos 4 descendentes do sexo feminino.

Vejamus outra aplicação da distribuição binomial na genética. Suponhamos que um criador de bovinos possua um touro com fenótipos favoráveis para várias características e esteja interessado em conhecer, por exemplo, qual a probabilidade de que ele produza um espermatozóide idêntico ao que lhe deu origem. Para responder à indagação, é necessário inicialmente desconsiderar a ocorrência de permuta genética (Capítulo 9). Isso porque, com a permuta, essa probabilidade evidentemente será nula.

Como nos bovinos  $2n = 60$  cromossomos, o touro recebeu 30 cromossomos via espermatozóide e 30 cromossomos do óvulo. Como foi comentado (Capítulo 4) que a orientação a ser seguida na metáfase I para cada um dos cromossomos homólogos só tem duas opções, a probabilidade de que o cromossomo 1 vá para um polo qualquer da célula é de  $1/2$ , o mesmo ocorrendo com os cromossomos 2, 3, 4 etc. Desse modo, como são eventos independentes, a probabilidade de que todos os cromossomos de uma dada origem migrem para um determinado polo é  $(1/2)^{30}$ . Pode-se perguntar também, por exemplo, qual a probabilidade de que o espermatozóide tenha 50% dos cromossomos que vieram do genitor masculino. Aqui, também, o modo mais eficiente de resolver é via distribuição binomial. Assim sendo, tem-se:

$n = 30$  cromossomos

$w = 15$  cromossomos de origem materna

$x = 15$  cromossomos de origem paterna

$p = q = 1/2$

Pela expressão do binômio, obtém-se:

$$\frac{n!}{w!x!} p^w q^x = \frac{30!}{15! 15!} (1/2)^{15} (1/2)^{15} = 0,1445 = 14,45\%$$

Por outro lado, se a pergunta fosse qual a probabilidade de se ter pelo menos 90% dos cromossomos que vieram do pai, a distribuição binomial facilitaria a obtenção do resultado. Como 90% de 30 são 27 cromossomos, então os eventos que nos interessam envolvem 27, 28, 29 e 30 cromossomos paternos. A probabilidade de se ter cada um destes eventos é:

$$P(27) = \frac{30!}{27!3!} (1/2)^{27} (1/2)^3$$

$$P(28) = \frac{30!}{28!2!} (1/2)^{28} (1/2)^2$$

$$P(29) = \frac{30!}{29!1!} (1/2)^{29} (1/2)^1$$

$$P(30) = \frac{30!}{30!0!} (1/2)^{30} (1/2)^0$$

Como os eventos são mutuamente exclusivos, a probabilidade de se ter pelo menos 90% dos cromossomos é fornecida por:  $P(27) + P(28) + P(29) + P(30) = 0,0004215\%$ .

### 7.3.2 Distribuição Polinomial

Nos casos considerados anteriormente, foram apresentados apenas dois eventos, como macho ou fêmea. Contudo, em genética, é normal ocorrerem casos em que estão envolvidos mais de dois eventos. Seja, por exemplo, um rebanho de bovinos da raça Shorthorn. Nessa raça, a cor dos animais pode ser branca, vermelha e vermelho-branca (ruão). Esse caráter é controlado por um gene, sendo que o branco possui o genótipo  $R^1R^1$ , o vermelho  $R^2R^2$  e o vermelho-branco  $R^1R^2$ . Nesse caso, tem-se uma distribuição com três fatores, isto é, uma distribuição trinomial, fornecida por  $(a + b + c)^n$ , em que a, b e c representam os eventos - genótipos  $R^1R^1$  (branco),  $R^2R^2$  (vermelho) e  $R^1R^2$  (vermelho-branco). O estimador para calcular a probabilidade de um determinado evento é semelhante à da distribuição binomial, ou seja:

$$(a + b + c)^n = \sum_{i=0}^n \frac{n!}{w!x!y!} p^w q^x r^y,$$

em que, w, x e y representam o número de descendentes de cada um dos três diferentes genótipos, cujas probabilidades são p, q e r, respectivamente. No cruzamento de um touro vermelho-branco com 12 vacas também vermelho-brancas, espera-se o seguinte resultado na descendência:

$$\begin{array}{ccc}
 \text{Vacas} & & \text{Touro} \\
 \mathbf{R^1R^2} & \times & \mathbf{R^1R^2} \\
 \frac{1}{4} \mathbf{R^1R^1} & \frac{1}{2} \mathbf{R^1R^2} & \frac{1}{4} \mathbf{R^2R^2}
 \end{array}$$

Desse modo, **p**, **q** e **r** assumem valores de 1/4, 1/2 e 1/4, respectivamente. Pode-se indagar, por exemplo, qual a probabilidade de que entre os 12 descendentes três sejam brancos, três vermelho-brancos e os demais vermelhos? Nessa situação, têm-se:

$n = 12$  descendentes

$w = 3$  brancos

$x = 3$  vermelhos brancos

$y = 6$  vermelhos

$p = 1/4$

$q = 1/2$

$r = 1/4$

Assim, obtém-se:

$$\frac{n!}{w!x!y!} p^w q^x r^y = \frac{12!}{3! 3! 6!} (1/4)^3 (1/2)^3 (1/4)^6 = 0,008811 \text{ ou seja, } 0,8811\%.$$

Vejam agora, qual é a probabilidade de que ocorra 3 brancos, 6 vermelho-brancos e 3 vermelhos, isto é, a proporção esperada.

$n = 12$  descendentes

$w = 3$  brancos

$x = 6$  vermelhos brancos

$y = 3$  vermelhos

$p = 1/4$

$q = 1/2$

$r = 1/4$

Neste caso, tem-se:

$$\frac{n!}{w!x!y!} p^w q^x r^y = \frac{12!}{3! 6! 3!} (1/4)^3 (1/2)^6 (1/4)^3 = 0,0704952 \text{ ou seja, } 7,05\%.$$

Como era de se imaginar, essa probabilidade é bem superior à observada no caso anterior.

Qualquer outra distribuição polinomial pode ser considerada. Como exemplo, a cor e a textura das sementes do milho. Como já foi mencionado, quando estas duas características estão envolvidas, os seguintes genótipos e suas respectivas proporções são esperadas na geração  $F_2$ :

Semente amarela e lisa	9/16
Semente amarela e enrugada	3/16
Semente branca e lisa	3/16
Semente branca e enrugada	1/16

No exemplo, têm-se quatro fenótipos - eventos **a**, **b**, **c**, **d** - que ocorrem com as probabilidades de **p**, **q**, **r** e **s**, respectivamente, e a expressão do polinômio passa a ser:

$$(a + b + c + d)^n = \sum_{i=0}^n \frac{n!}{w!x!y!z!} p^w q^x r^y s^z$$

Pode-se perguntar, por exemplo, qual a probabilidade de se tomar ao acaso 20 sementes de uma espiga  $F_2$  de milho e de se obter 11 sementes amarelas e lisas e 3 de cada um dos fenótipos restantes. Na situação em pauta, têm-se:

$n = 20$  sementes

$w = 11$  sementes amarelas e lisas

$x = y = z = 3$  sementes com outros fenótipos

$p = 9/16$

$q = r = 3/16$

$s = 1/16$

Assim obtém-se:

$$\begin{aligned} \frac{n!}{w!x!y!z!} p^w q^x r^y s^z &= \frac{20!}{11! 3! 3! 3!} (9/16)^{11} (3/16)^3 (3/16)^3 (1/16)^3 \\ &= 0,00533956 = 0,534\%. \end{aligned}$$

É fácil visualizar que essas distribuições têm inúmeras aplicações na genética e podem desempenhar um importante papel no trabalho do geneticista e/ou melhorista de plantas e animais.

#### 7.4 PROBABILIDADE DE SE OBTER UMA DETERMINADA COMBINAÇÃO GENOTÍPICA

A probabilidade possui outra aplicação de grande utilidade na genética, que é a determinação do tamanho mínimo de uma população segregante para se obter pelo menos uma planta com o genótipo desejado. Já foi mostrado que é possível conhecer a probabilidade de ocorrência de uma combinação genotípica qualquer em uma determinada geração. Como o objetivo é obter pelo menos uma planta com o genótipo almejado, o problema está em reduzir ao mínimo a probabilidade de não ocorrência desse genótipo.

Seja **p** a probabilidade de ocorrência de um genótipo desejado e logicamente  $(1 - p)$  a probabilidade de que o mesmo não ocorra. Assim, com o aumento da população, diminui

exponencialmente a probabilidade de não ocorrência do referido genótipo como mostra a Tabela 7.4. Essa expressão permite estimar o tamanho mínimo da população -  $n$  - para se obter pelo menos um indivíduo com uma dada probabilidade de ocorrência do evento. Como exemplo, será considerado o cruzamento de plantas de milho com sementes lisas e enrugadas, apresentado no Capítulo 5.

Do exposto pode-se obter uma população qualquer de tamanho ( $n$ ), com uma probabilidade  $P$  de ocorrência do genótipo ou fenótipo desejado, e de  $(1 - P)$  de não ocorrência. Sendo assim, na população com  $n$  indivíduos haverá a probabilidade  $(1 - P)$  de não ocorrer pelo menos um dos genótipos ou fenótipos desejados, e pode-se escrever que:

$$(1 - p)^n = (1 - P)$$

e resolvendo tem-se:

$$n = \frac{\log(1 - P)}{\log(1 - p)}$$

A partir desse resultado, pode-se indagar qual o tamanho mínimo da geração  $F_2$  para que se tenha pelo menos uma semente enrugada, considerando uma probabilidade de 99% de que essa planta ocorra. No exemplo, a probabilidade de que o genótipo almejado ocorra é  $p = 1/4$ ; a probabilidade desejada de ocorrência de pelo menos 1 indivíduo é  $P = 0,99$  ou 99%. Assim, o tamanho mínimo da população será:

$$n = \frac{\log(1 - P)}{\log(1 - p)} = \frac{\log(1 - 0,99)}{\log(1 - 0,25)} = 16,0078$$

**TABELA 7.4.** Probabilidades de não-ocorrência de um genótipo desejado em função do tamanho da população.

Número de indivíduos na população	Probabilidade de não-ocorrência de um genótipo desejado
1	$1 - p$
2	$(1 - p)^2$
3	$(1 - p)^3$
⋮	⋮
$n$	$(1 - p)^n$

Isso significa que, com uma população de 16 sementes, tem-se 99% de probabilidade de que pelo menos um dos indivíduos seja o procurado, isto é, sementes enrugadas. Na Tabela 7.5, é fornecido o número mínimo de indivíduos -  $n$  - na população segregante, para diferentes probabilidades de ocorrência de um evento desejado - genótipo ou fenótipo - considerando que este ocorra com probabilidade de 95 ou 99%.

**TABELA 7.5.** Estimativas do tamanho da população - n – em que ocorre pelo menos um indivíduo desejado com 95% ou 99% de probabilidade (P).

Probabilidade do evento - p	Tamanho da população - n	
	(P) = 0,95	(P) = 0,99
15/16	1,08	1,66
13/16	1,79	2,75
3/4	2,16	3,32
2/3	2,73	4,19
9/16	3,62	5,57
1/2	4,32	6,64
7/16	5,21	8,00
27/64	5,47	8,40
3/8	6,37	9,80
1/3	7,39	11,36
1/4	10,41	16,01
3/16	14,43	22,18
9/64	19,77	30,39
1/8	22,43	34,49
1/16	46,42	71,36
3/64	62,40	95,92
1/32	94,36	145,05
1/64	190,23	292,42
1/256	765,41	1176,62
1/512	1532,32	2355,54
1/1024	3066,13	4713,39
1/2048	6133,76	9429,09
1/4096	12269,02	18860,47

### 7.5 TESTE DE SIGNIFICÂNCIA - TESTE $\chi^2$

Em genética, assim como em muitas outras ciências, os resultados numéricos observados em um experimento são frequentemente comparados com aqueles esperados com base em alguma hipótese. Suponhamos um experimento envolvendo o estudo da herança da cor e textura da semente do milho (Capítulo 5) em que foram obtidas 480 sementes assim distribuídas: 268 amarelas e lisas, 86 amarelas e enrugadas, 97 brancas e lisas e 29 brancas e enrugadas. Considerando que o caráter cor da semente é controlado por um gene com dominância do alelo que condiciona cor amarela sobre branca, a segregação esperada em  $F_2$  é de 3 amarelas: 1 branca. Do mesmo modo, no controle da textura da semente, a segregação esperada em  $F_2$  é também de 3 lisas: 1 enrugada. Admitindo-se que os dois genes apresentam distribuição

independente, a proporção esperada quando se consideram as duas características ao mesmo tempo será obtida (ver Capítulo 5) pelo produto das probabilidades dos dois eventos em separado, isto é  $(3:1)(3:1) = 9:3:3:1$ . Temos então que verificar se os valores observados se ajustam a essas proporções esperadas.

Baseado na hipótese formulada -  $H_0$ , segregação de 9:3:3:1-, os valores esperados são:  $9/16(480) = 270$  amarelas lisas;  $3/16(480) = 90$  amarelas enrugadas;  $3/16(480) = 90$  brancas lisas;  $1/16(480) = 30$  brancas enrugadas. Comparando o valor esperado com o observado para cada fenótipo obtém-se o desvio, como mostrado na Tabela 7.6. Devemos verificar, então, se esses desvios são significativos ou não, baseados na probabilidade de ocorrência do evento. Se os desvios não são significativos, conclui-se que eles são decorrentes do acaso, aceitando-se a hipótese formulada. Em outras palavras, será considerado que os valores observados se ajustam à proporção esperada de 9:3:3:1 e, geneticamente, isso significa que as duas características são controladas por genes que se distribuem independentemente. Por outro lado, se os desvios são significativos, a hipótese é rejeitada, havendo necessidade de se formular nova hipótese para explicar os resultados obtidos.

**TABELA 7.6.** Frequências observadas, esperadas e desvios de cada fenótipo na geração  $F_2$ , relativo ao estudo da herança da cor e textura da semente do milho.

Fenótipos	Frequência observada - FO	Frequência <sup>1/</sup> esperada - FE	Desvios (FO - FE)
Amarela lisa	268	270	- 2
Amarela enrugada	86	90	- 4
Branca lisa	97	90	+ 7
Branca enrugada	29	30	- 1

<sup>1/</sup> Considerando a segregação de 9:3:3:1

Para determinar se os desvios são significativos ou não, deve-se lançar mão de testes estatísticos, os quais irão avaliar se apenas o erro amostral é suficiente para explicar os desvios estimados entre os valores observados e os esperados. Os testes estatísticos são empregados para estimar o valor da probabilidade associado a um determinado desvio. Quanto maior o valor da probabilidade, maior é a chance que os desvios sejam decorrentes dos fatores de acaso. Por exemplo, suponha que os cálculos do teste estatístico dê uma probabilidade de 0,30. Esse valor significa que, nas condições em que foi avaliada essa geração  $F_2$ , há 30% de possibilidade de que apenas o erro amostral seja suficiente para explicar a ocorrência de desvios de mesma magnitude e, conseqüentemente, há 70% de chance de que os desvios sejam decorrentes de outras causas. Por outro lado, um valor da probabilidade de 0,01 indicaria que há somente 1% de chance que apenas o erro amostral

seja suficiente para explicar desvios de magnitude semelhante, enquanto as outras causas do desvio atingem o nível de 99% de probabilidade.

Temos de decidir qual o valor da probabilidade que desejamos encontrar para indicar se os desvios são decorrentes do acaso ou não. Normalmente, é escolhido o nível de significância de 0,05 ou 5%; isso ajuda a minimizar a chance de aceitar uma hipótese errada sem incrementar a probabilidade de rejeitar a hipótese correta. Assim, se o teste estatístico fornecer um valor de probabilidade superior a 5%, pode-se concluir que o erro amostral é, na realidade, a causa dos desvios observados. Denominam-se os desvios como não significativos e aceita-se a hipótese formulada. Mas, se o teste estatístico fornece um valor abaixo de 5%, conclui-se, então, que os desvios não podem ser explicados apenas em função do erro amostral. Nesse caso, denominam-se os desvios como significativos e rejeita-se a hipótese. É importante compreender que o nível de significância somente fornece a probabilidade base para a qual nós rejeitamos a hipótese, mas não fornece prova de que a hipótese é verdadeira ou falsa.

Resta agora comentar que existem vários testes estatísticos que podem ser utilizados para verificar a significância dos desvios. Um dos testes mais utilizados pelos geneticistas é o  $\chi^2$  - qui-quadrado. Nesse teste, os desvios são transformados num único valor de  $\chi^2$ , o qual é uma medida padronizada da magnitude dos desvios. Cada valor de  $\chi^2$  está associado a uma probabilidade que corresponde à possibilidade de que os desvios tenham a mesma magnitude se o experimento for repetido. O valor de  $\chi^2$  é estimado pela seguinte expressão:

$$\chi^2 = \sum \left\{ (FO - FE)^2 / FE \right\}$$

Vejamos a aplicação deste teste no estudo da herança da cor e textura da semente do milho (Tabela 7.7). A hipótese formulada é a de que a frequência observada se ajusta à frequência esperada, considerando uma proporção fenotípica de 9:3:3:1. Para aceitarmos, ou não, a hipótese  $H_0$ , isto é, para verificar se os desvios observados foram em razão, exclusivamente, do acaso, deve-se comparar o valor calculado do  $\chi^2$  com um valor tabelado (Tabela 7.8). No corpo da Tabela, estão apresentados os valores de  $\chi^2$  associados a uma certa probabilidade - P - que representa a chance de os desvios serem decorrentes do acaso.

Na primeira coluna da Tabela 7.8, representam-se os graus de liberdade - GL. Em uma análise de  $\chi^2$ , os GL correspondem ao número de classes em que os dados foram separados, menos 1. Como exemplo, existem 4 classes fenotípicas, então o GL é igual a 3. Isso indica que existem 3 classes que podem assumir qualquer valor, mas a quarta classe terá o valor determinado para completar o número total de indivíduos. De posse dessas informações, pode-se agora recorrer à Tabela 7.8, e verificar em que nível de probabilidade se enquadra o valor do  $\chi^2$  calculado. Com 3 GL, o valor de  $\chi^2$  calculado - 0,770 - situa-se entre os níveis de 80% e 90% de probabilidade de que os desvios sejam decorrentes do acaso. Isso indica

que a segregação observada em  $F_2$  se ajusta à proporção de 9:3:3:1 e, conseqüentemente, que as características são controladas por dois genes que se distribuem independentemente.

**TABELA 7.7.** Aplicação do teste  $\chi^2$  aos dados da geração  $F_2$ , relativo ao estudo da herança da cor e textura da semente do milho.

Fenótipos	FO	FE	Desvios (FO - FE)	(Desvios) <sup>2</sup>	$\chi^2 = (\text{Desvios})^2/\text{FE}$
Amarela lisa	268	270	- 2	4	0,015
Amarela enrugada	86	90	- 4	16	0,178
Branca lisa	97	90	+ 7	49	0,544
Branca enrugada	29	30	- 1	1	0,033

$$\chi^2 = 0,770$$

Na utilização do teste de  $\chi^2$  alguns cuidados são necessários:

- O teste somente deve ser aplicado aos dados observados do experimento e nunca às porcentagens ou proporções oriundas dos mesmos.

- O teste é muito sensível ao tamanho da amostra. Se a amostra é muito pequena, por exemplo, a classe de menor frequência foi inferior a 5, o teste pode não ser acurado. No caso de amostras pequenas, é comum utilizar a correção de Yates, que consiste em subtrair 0,5 dos desvios entre a frequência observada e a esperada. Dessa forma, a expressão do  $\chi^2$  passa a ser:

$$\chi^2 = \sum \left\{ \frac{[(FO - FE) - 1/2]^2}{FE} \right\}$$

- Finalmente, deve ser mencionado que a decisão de aceitar ou rejeitar a hipótese não deve ser tomada como prova de que a proporção genética proposta é verdadeira ou não. O teste estatístico somente auxilia nessa decisão, fornecendo os valores de probabilidade de que os desvios sejam decorrentes do acaso.

**TABELA 7.8.** Valores de  $\chi^2$  para diferentes níveis de probabilidade.

GL <sup>1/</sup>	Probabilidades										
	0,95	0,90	0,80	0,70	0,50	0,30	0,20	0,10	0,05	0,01	0,001
1	0,004	0,02	0,06	0,15	0,46	1,07	1,64	2,71	3,84	6,64	10,83
2	0,10	0,21	0,45	0,71	1,39	2,41	3,22	4,60	5,99	9,21	13,82
3	0,35	0,58	1,01	1,42	2,37	3,66	4,64	6,25	7,82	11,34	16,27
4	0,71	1,06	1,65	2,20	3,36	4,88	5,99	7,78	9,49	13,28	18,47
5	1,14	1,61	2,34	3,00	4,35	6,06	7,29	9,24	11,07	15,09	20,52
6	1,63	2,20	3,07	3,83	5,35	7,23	8,56	10,64	12,59	16,81	22,46
7	2,17	2,83	3,82	4,67	6,35	8,38	9,80	12,02	14,07	18,48	24,32
8	2,73	3,49	4,59	5,53	7,34	9,52	11,03	13,36	15,51	20,09	26,12
9	3,32	4,17	5,38	6,39	8,34	10,66	12,24	14,68	16,92	21,67	27,88
10	3,94	4,86	6,18	7,27	9,34	11,78	13,44	15,99	18,31	23,21	29,59
Não significativo									Significativo		

<sup>1/</sup> Grau de Liberdade.

### PROBLEMAS PROPOSTOS

1. Na raça holandesa de bovinos, os animais podem ser preto e branco, pelo alelo dominante **V**, e vermelho e branco, pelo alelo recessivo **v**. Do cruzamento de um touro heterozigoto com uma vaca vermelha e branca, determine as seguintes probabilidades:
  - a) De o primeiro descendente ser preto e branco;
  - b) De os dois primeiros serem preto e branco;
  - c) De os dois primeiros terem a mesma cor de pelagem;
  - d) De os dois tipos de pelagens ocorrerem nos dois primeiros descendentes.
  
2. Em um cruzamento em galinhas, obteve-se uma ninhada com 12 pintinhos. Determine as seguintes probabilidades:
  - a) De os 12 pintinhos serem do sexo masculino;
  - b) De todos possuírem o mesmo sexo;
  - c) De ocorrer 6 fêmeas;
  - d) De ocorrer pelo menos 6 fêmeas.
  
3. Na ervilha  $2n = 14$ , do cruzamento entre uma cultivar brasileira e uma européia, obteve-se a geração  $F_1$ . Considerando a meiose das plantas da geração  $F_1$ , pergunta-se:
  - a) Qual a probabilidade de ocorrer um grão de pólen com todos os centrômeros provenientes da cultivar brasileira?
  - b) Qual a probabilidade de um grão de pólen ser portador de um centrômero da cultivar brasileira e os demais da européia?
  - c) Qual a probabilidade de um grão de pólen ser portador de pelo menos três centrômeros de origem da cultivar brasileira?
  
4. Em bovinos, o fenótipo mocho é decorrente de um alelo dominante, e o alelo recessivo confere o fenótipo chifrudo. Um touro mocho foi cruzado com 10 vacas sabidamente heterozigóticas e todos os descendentes foram mochos. Qual a probabilidade do touro ser homozigoto?
  
5. Em coelho, a cor branca é decorrente do alelo recessivo **c** e a himalaia ao alelo dominante **c<sup>h</sup>**. Um macho heterozigoto foi cruzado com uma fêmea de mesmo genótipo e produziu 8 descendentes. Qual a probabilidade de que a progênie apresente exatamente a proporção esperada de 3 himalaias: 1 branco?

6. Em café, a planta pode apresentar altura normal - bourbon - pelo genótipo  $n^a n^a$ , as plantas de genótipo  $nn$  são anãs -  $n^a n^a$  - e as de genótipo  $n^a n$  apresentam altura intermediária - murta. Do cruzamento entre duas plantas murtas foram obtidas 12 sementes. Determine as seguintes probabilidades:
- De todas as sementes produzirem plantas do tipo murta;
  - De todas as plantas serem nana;
  - De que a descendência seja exatamente a esperada de 3 bourbon : 6 murta : 3 nana.
7. Em ovelha, a ausência de orelhas é decorrente de genótipo  $E^1 E^1$ , as orelhas curtas ocorrem em razão do genótipo  $E^1 E^2$  e as orelhas longas são determinadas pelo genótipo  $E^2 E^2$ . Nesses animais, a cor da gordura pode ser branca, pelo alelo dominante  $F$ , e amarela, pelo alelo recessivo  $f$ . Determine os tamanhos das descendências, para se conseguir 12 animais sem orelhas e que produzam gordura amarela, com 95% e 99% de probabilidade, a partir dos seguintes cruzamentos:
- $E^1 E^2 Ff \times E^1 E^2 Ff$
  - $E^1 E^2 Ff \times E^1 E^1 Ff$
  - $E^1 E^1 ff \times E^1 E^2 Ff$
8. Em tomate, o alelo dominante do gene  $C$  é responsável pelo fenótipo folha normal e o alelo  $c$  folha batata. Já o alelo dominante do gene  $A$  confere a cor roxa e o  $a$ , a cor verde das plantas. Analise os resultados dos seguintes cruzamentos e estime o valor do  $\chi^2$ . Lembre-se de que os dois genes em apreço situam-se em cromossomos diferentes.

Cruzamentos	Número de descendentes			
	Roxo recortado	Roxo batata	Verde recortado	Verde batata
a) $AaCc \times Aa Cc$	41	15	8	2
b) $AaCc \times aaCc$	321	101	310	107
c) $AaCc \times Aacc$	219	207	64	71
d) $AACc \times aaCc$	722	231	0	0
e) $AaCC \times aacc$	404	0	387	0
f) $Aacc \times aaCc$	70	91	86	77



# 8 ALELISMO MÚLTIPLO

## 8.1 ALELISMO MÚLTIPLO E A VARIABILIDADE DAS POPULAÇÕES

Nos exemplos discutidos nos capítulos anteriores, foram considerados apenas dois alelos de um dado gene, afetando a expressão de um caráter. No entanto, um gene pode possuir, em geral, não apenas dois alelos, mas vários. A esse grupo de alelos dá-se o nome de série alélica e ao fato de um caráter se expressar de várias maneiras alternativas, em decorrência de uma série alélica, denomina-se **alelismo múltiplo**.

É importante lembrar que estão sendo considerados indivíduos diplóides e cada indivíduo pode conter, no máximo, dois alelos diferentes. Assim, a série alélica ocorre em nível populacional.

Os alelos múltiplos são representados pela mesma letra, acompanhada de um expoente, para serem diferenciados. Assim, uma série alélica de um gene A pode ser representada por  $A^1, A^2, A^3 \dots A^m$  alelos desse gene.

Os diferentes alelos de uma série surgem pela ocorrência de mutação. Como vimos no Capítulo 3, um gene corresponde a uma sequência de pares de nucleotídeos que codifica uma cadeia polipeptídica. Supondo que esta cadeia polipeptídica possua 100 aminoácidos, necessita-se de pelo menos 300 pares de nucleotídeos para codificá-la. Se considerarmos apenas uma substituição de bases do DNA, que é uma das causas de mutações gênicas, existe a possibilidade de sua ocorrência nos 300 pares de nucleotídeos. Além disso, em cada par há três possíveis substituições, isto é, se no alelo original temos o par A-T, este pode ser substituído por G-C, T-A e C-G. Assim, no segmento de DNA com 300 pares existem 900 possibilidades de alterações, para formar, teoricamente, 900 alelos. É evidente também que esse alelo pode sofrer, simultaneamente, duas ou mais substituições, o que contribuirá para produzir um número de alterações - alelos - extremamente grande. É necessário lembrar que essas inúmeras possibilidades diminuem em razão do código genético ser degenerado e da ocorrência de inúmeras mutações sem sentido ou de sentido errado, que produzem enzimas não funcionais. No entanto, em função das possibilidades de alterações do DNA serem quase ilimitadas, pode-se facilmente compreender por que todo gene deve ser representado por uma série alélica.

A ocorrência de uma mutação produzindo um alelo novo é a fonte original que permite ampliar a variabilidade genética de uma população. Essa ampliação se dá de modo mais rápido, graças à reprodução sexuada, que combina os alelos em vários genótipos diferentes. Assim, por exemplo, se temos dois alelos,  $A^1$  e  $A^2$ , o número de genótipos diferentes na população será três,  $A^1A^1$ ,  $A^1A^2$  e  $A^2A^2$ , porém, se surgir um terceiro alelo,  $A^3$ , o número de genótipos diferentes passa a ser de seis, os três anteriores e mais  $A^1A^3$ ,  $A^2A^3$  e  $A^3A^3$ . Se considerarmos  $m$  alelos, o número de genótipos diferentes - NGD - é dado pela expressão:

$$NGD = \frac{m(m+1)}{2}$$

Desse total de genótipos, o número de homozigotos é igual ao número de alelos -  $m$  - e o número de heterozigotos - NGH - é dado pela expressão:

$$NGH = \frac{m(m-1)}{2}$$

Quando se considera mais de uma série alélica, uma de cada gene, o número de genótipos na população aumenta exponencialmente. Assim, dois genes A e B, cada um representado por  $m$  alelos, permite formar na população  $[m(m+1)/2]^2$  genótipos diferentes, sendo  $m^2$  homozigotos em ambos os locos, os demais terão pelo menos um dos locos, em heterozigose. Sejam os genes A e B, com dois alelos  $A^1$  e  $A^2$  e  $B^1$  e  $B^2$ . Na população serão possíveis 9 genótipos diferentes:  $A^1A^1B^1B^1$ ,  $A^1A^1B^1B^2$ ,  $A^1A^1B^2B^2$ ,  $A^1A^2B^1B^1$ ,  $A^1A^2B^1B^2$ ,  $A^1A^2B^2B^2$ ,  $A^2A^2B^1B^1$ ,  $A^2A^2B^1B^2$  e  $A^2A^2B^2B^2$ .

Então, nesse caso,  $m = 2$ , o número de genótipos diferentes é fornecido pela expressão  $[m(m+1)/2]^2 = 9$ . Desses,  $m^2 = 4$  são homozigotos, em ambos os locos;  $A^1A^1B^1B^1$ ,  $A^1A^1B^2B^2$ ,  $A^2A^2B^1B^1$ ,  $A^2A^2B^2B^2$ . Os demais terão pelo menos um loco em heterozigose.

Para  $n$  genes com  $m$  alelos o número de genótipos diferentes é fornecido pela expressão  $[m(m+1)/2]^n$ . Desses,  $m^n$  serão homozigotos em todos os locos. Se desejarmos encontrar o número das diferentes combinações genóticas possíveis, com diferentes números de locos em homozigose ou heterozigose, poderemos utilizar as propriedades de expansão do binômio  $(h_o + h_e)^n$  em que

$h_o$ : número de locos em homozigose. Lembrando-se que para cada loco, correspondente ao número de alelos

$h_e$ : número de locos em heterozigose que é dado por  $\frac{m(m-1)}{2}$ , para cada loco.

Então, pela expansão do binômio tem-se:

$$\sum_{i=0}^n c_n^i m^{n-i} \left[ \frac{m(m-1)}{2} \right]^i$$

em que  $i$  é o número de locos em heterozigose em cada classe de genótipo,  $C_n^i$  é a combinação dos  $n$  locos em cada classe para um dado valor de  $i$ .

Como exemplo do emprego dessa expressão, vamos considerar quatro locos ( $n = 4$ ) com oito alelos em cada ( $m = 8$ ). Nesse caso, temos os valores de  $i$  variando de 0 a 4, portanto, são possíveis, cinco classes. O número esperado de genótipos em cada classe é:

$i$	Classes de Genótipos	Número de Genótipos
0	4 locos homozigóticos	$C_4^0 8^4 (28)^0 = 4.096$
1	3 locos homo e 1 hetero	$C_4^1 8^3 (28)^1 = 57.344$
2	2 locos homo e 2 hetero	$C_4^2 8^2 (28)^2 = 301.056$
3	1 loco homo e 3 hetero	$C_4^3 8^1 (28)^3 = 702.464$
4	4 locos heterozigóticos	$C_4^4 8^0 (28)^4 = 614.656$

Podemos notar que o total de genótipos dessas cinco classes é de 1.679.616 e corresponde ao  $NGD = [m(m + 1)/2]^n$ .

Quando o número de alelos não é o mesmo para vários genes, o número de genótipos na população pode ser determinado, seguindo-se o mesmo raciocínio. Assim, considerando que o gene A possui  $r$  alelos e o gene B possui  $s$  alelos, o número de genótipos diferentes será  $\{[r(r + 1)/2] \cdot [s(s + 1)/2]\}$ , dos quais  $r \cdot s$  correspondem ao número de homozigotos,  $\{[r(r - 1)/2] \cdot [s(s - 1)/2]\}$  corresponde ao número de heterozigotos nos dois locos,  $r[s(s - 1)/2]$  corresponde aos genótipos homozigóticos no loco A e heterozigóticos em loco B e  $s[r(r - 1)/2]$  corresponde aos genótipos homozigóticos no loco B e heterozigóticos em A. Para três ou mais genes, obtém-se o número de genótipos para cada um individualmente, e, em seguida, determina-se o número total de genótipos na população, que corresponde ao produto dos números individuais para cada série alélica - lei do produto das probabilidades.

## 8.2 EXEMPLOS DE ALELISMO MÚLTIPLO EM ANIMAIS

Entre os vários exemplos de alelismo múltiplo, é interessante citar a cor da pelagem da maioria dos animais domésticos. No cão, por exemplo, a cor da pelagem de certas raças é explicada pela presença de 5 alelos do gene C. O alelo C é responsável por uma intensa pigmentação;  $c^{de}$  cor de intensidade reduzida de vermelho passando para amarelo;  $c^d$  nesse caso, o pelo é branco com pele e olhos escuros;  $c^h$  pelos cinzas e olhos azuis escuros;  $c$  cor albina, nariz rosa, olhos azuis e pelos brancos.

Como a série responsável pela cor da pelagem é composta de cinco alelos, nas populações de cachorros são possíveis 15 genótipos diferentes, sendo 5 genótipos homozigóticos e 10 genótipos heterozigóticos. A única interação que ocorre entre os alelos é a dominância completa que é representada, em ordem decrescente, da seguinte maneira:  $C >$

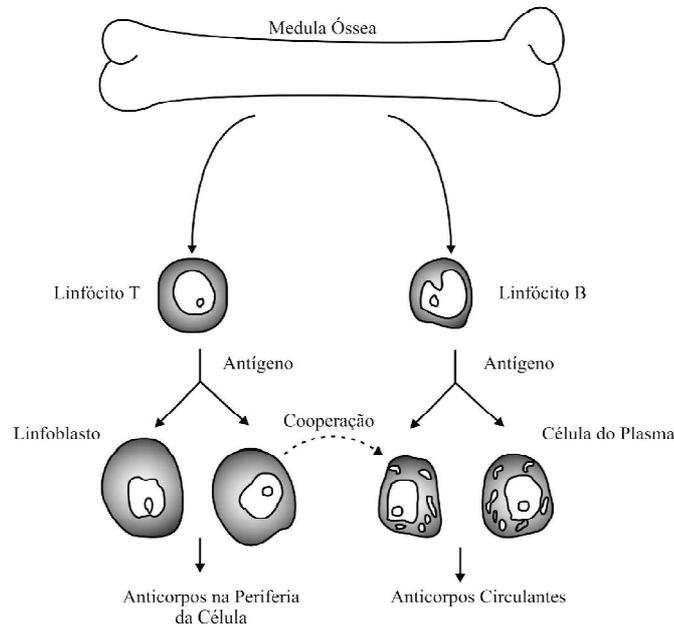
$c^{de} > c^d > c^h > c$ . Nesse caso, os quinze genótipos expressam apenas cinco fenótipos correspondentes ao número de alelos.

O melhor exemplo de alelismo múltiplo em animais ocorre no sistema imunológico. Por essa razão, alguns comentários a respeito serão feitos. É uma área importantíssima em termos de conhecimento e, inclusive, foi criada uma subdivisão da genética, denominada de **IMUNOGENÉTICA**, responsável pelo seu estudo.

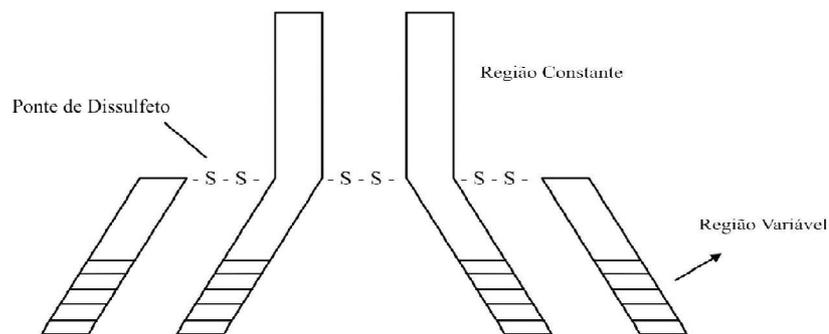
O sistema imunológico só ocorre nos vertebrados. Quando uma substância estranha, chamada antígeno, entra na corrente sanguínea desses animais, eles respondem ao ataque, por meio de um sistema de proteção denominado resposta imune. Essa resposta imune envolve a produção de uma proteína, produto de genes, que é capaz de reconhecer e destruir o corpo estranho. A reação do organismo à presença do antígeno é realizada por substâncias produzidas pelos tecidos linfóides (nódulos linfáticos, amígdalas e baço). A resposta imunológica é realizada basicamente pelos linfócitos B e linfócitos T (Figura 8.1). Desses, a que nos interessa mais em termos de imunogenética é a dos linfócitos B, que produzem os **anticorpos**. Vale salientar que, como antígeno, existem uma infinidade de substâncias. Os anticorpos devem ser suficientemente versáteis para reconhecer e destruir todas as substâncias estranhas ao organismo. Alguns comentários de como é produzida essa versatilidade de atuação dos anticorpos serão apresentados a seguir.

Os anticorpos são proteínas denominadas imunoglobulinas. Elas são formadas por quatro cadeias polipeptídicas, sendo duas leves, denominadas cadeia L, com cerca de 214 aminoácidos, e duas pesadas, cadeias H, com 446 aminoácidos. Nas Figura 8.2, encontra-se o esquema de uma molécula de um anticorpo. Observe que as moléculas são unidas por pontes de dissulfeto e possuem uma região constante e outra variável. Detalhes adicionais sobre essa molécula são encontrados em Garrett e Grisham (1995). Aqui é importante enfatizar que há vários genes, distribuídos em diferentes cromossomos responsáveis pela produção das cadeias polipeptídicas das moléculas de imunoglobulinas. Os diferentes arranjos desses genes afetam a parte variável da cadeia, e possibilitam, assim, a produção de uma enorme diversidade de anticorpos capazes de reconhecer praticamente toda substância estranha que penetra no organismo.

Como foi mencionado, esses anticorpos só serão produzidos se ocorrerem antígenos estranhos ao organismo. Há exceções de anticorpos, contudo, que são produzidos independente da presença dos antígenos específicos. É o que ocorre no sistema sanguíneo (ABO) da espécie humana, J em bovinos e AB em gatos. Nesse caso, ocorrem anticorpos naturais, que surgem logo após o nascimento.



**FIGURA 8.1.** A origem e processamento das células produtoras de anticorpos. Adaptado de Strickberger (1976)



**FIGURA 8.2.** Esquema de uma molécula de anticorpo.

No sangue, mais especificamente nas hemácias, são produzidos inúmeros antígenos. Esses antígenos são geneticamente controlados e a maioria dos genes envolvidos possui vários alelos. Na Tabela 8.1, encontra-se uma ideia da diversidade de antígenos existentes em alguns animais e o número de alelos em cada um deles. A penetração de hemácias estranhas ao organismo, por transfusão ou outro mecanismo, induz à produção de anticorpos que são encontrados no soro.

Dos grupos sanguíneos, o mais conhecido é o sistema ABO da espécie humana. Por essa razão, alguns comentários serão realizados a respeito desse sistema que, provavelmente, possa ser extrapolado para os sistemas existentes em outros mamíferos.

**TABELA 8.1.** Exemplos de sistemas de grupos sanguíneos em animais domésticos, evidenciando o grande número de alelos presentes na maioria dos casos.

<b>Gatos</b>													
Locos	A	B	C										
Nº de alelos*	2	2	2										
<b>Suínos</b>													
Locos	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
Nº de alelos	2	2	2	2	15	3	3	7	2	3	5	6	18
<b>Ovelhas</b>													
Locos	A	B	C	D	M	R	X						
Nº de alelos*	3	52	4	2	4	2	2						
<b>Bovinos</b>													
Locos	A	B	C	F	J	L	M	S	Z	T			
Nº de alelos	11	>1000	>100	8	4	2	3	15	3	2			
<b>Cavalos</b>													
Locos	A	C	D	K	P	Q	U						
Nº de alelos*	11	2	11	2	3	5	2						
<b>Cães</b>													
Locos	A	B	C	D	F	Tr	J	K	L	M	N		
Nº de alelos	3	2	2	2	2	3	2	2	2	2	2		
<b>Galinhas</b>													
Locos	A	B	C	E	H	I	J	K	L	P	R		
Nº de alelos*	5	35	5	5	9	3	5	3	4	2	10	2	

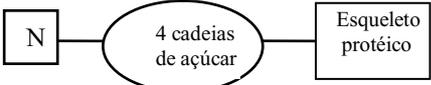
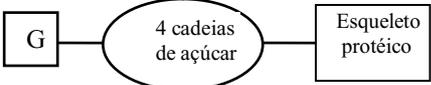
\* Número mínimo de alelos

No sistema ABO, existem quatro grupos sanguíneos A, B, AB e O. Os três primeiros produzem antígenos que são encontrados na superfície dos glóbulos vermelhos. Cada um desses antígenos consta de cadeia de açúcar associada à cadeia polipeptídica. Os antígenos A e B diferem somente no açúcar terminal (Tabela 8.2). A adição desse açúcar terminal é determinada por formas distintas da enzima transferase, que são produtos de alelos distintos situados no cromossomo 9.

Um dos alelos, o  $I^B$ , codifica uma enzima que interfere nos passos metabólicos, dando como produto a galactose no final da cadeia, isto é, o antígeno B. O alelo  $I^A$ , produz uma outra enzima, a N-acetil-galactosamina, que confere um açúcar final diferente do anterior. Quando o indivíduo é de genótipo  $I^A I^B$ , as duas enzimas são produzidas, ocorre codominância, e os dois tipos de antígenos são produzidos. Já, o alelo  $i$  não produz enzimas e, como consequência, nenhum antígeno. É interessante observar que  $I^A$  e  $I^B$  dominam o alelo  $i$ . Assim, são possíveis seis genótipos, os três homocigotos  $I^A I^A$ ,  $I^B I^B$  e  $ii$ , e três heterocigotos  $I^A i$ ,  $I^B i$ ,  $I^A I^B$ . Ocorrem quatro fenótipos, o A que

produz o antígeno A, o B antígeno B, o AB com os dois antígenos A e B e O que não produz nenhum dos dois antígenos.

**TABELA 8.2.** Antígenos do sistema ABO na espécie humana. (Adaptado de Nicholas, 1999).

Alelo	Grupo	Enzima	Antígeno
i	O	-	-
I <sup>A</sup>	A	N acetil galactosaminil transferase	
I <sup>B</sup>	B	galactosil transferase	

Se o sangue de um indivíduo do grupo A for doado a um do grupo B, as hemácias A do doador, antígeno A, são aglutinadas pelo anticorpo B do plasma do receptor. Os aglomerados de hemácias obstruem pequenos vasos sanguíneos, causando problemas circulatórios. Algum tempo depois, tais hemácias são destruídas pelos glóbulos brancos, liberando hemoglobina e outros produtos no plasma. Pode ocorrer, então, desde uma pequena reação alérgica até lesões renais graves que podem ocasionar a morte. O mesmo ocorre se um indivíduo do grupo B doar sangue a um do grupo A.

Quando a transfusão é pequena, até meio litro de sangue, os anticorpos do doador se diluem muito no volume total do sangue do receptor, a concentração é tão pequena a ponto de não causar aglutinação. Assim, o problema principal nas transfusões é a aglutinação das hemácias do doador pelo plasma do receptor.

Como já mencionado, indivíduos do grupo O não produzem antígenos. Assim, pequenas quantidades desse sangue podem ser doadas a qualquer receptor. Por isso, eles são denominados de doadores universais. Os indivíduos do grupo AB produzem os dois antígenos e nenhum anticorpo, portanto não podem doar sangue, a não ser para indivíduo do mesmo grupo sanguíneo, mas podem receber de qualquer outro grupo sendo denominados de receptores universais.

Um outro exemplo importante, citado na literatura de imunogenética, é a doença hemolítica de recém-nascidos. Essa doença é comum em potros. Os animais, ao nascer, são perfeitamente normais, porém, cerca de 24 horas após o parto, começam a apresentar sintomas de anemia aguda, icterícia e hemoglobinúria. Há alteração nos batimentos cardíacos e na respiração e, como consequência, normalmente os animais morrem em poucos dias.

Essa anomalia se deve a uma hemorragia que ocorre algumas vezes durante a gravidez ou nascimento (deslocamento da placenta), liberando hemácias do feto na corrente sanguínea da mãe, envolvendo o grupo sanguíneo A. Para que isso ocorra, o feto deve ter herdado o antígeno A do seu pai, isto é, o feto e o pai apresentam reação positiva para o referido antígeno ( $A^+$ ) e a mãe  $A^-$  (não produz o antígeno). Quando as células do feto entram em contacto com a corrente sanguínea da mãe, essa produzirá anticorpo contra o antígeno A. Esse anticorpo será transferido junto com outros existentes no colostro (denominação dada ao leite materno nos primeiros dias pós-parto) para o potro, durante a alimentação. Os anticorpos A, então absorvidos pelo tubo digestivo, passam à corrente sanguínea e destroem rapidamente todas as células com antígeno  $A^+$  na sua superfície.

Normalmente, no primeiro parto, o problema não é sério, já que a resposta imune é lenta. Contudo, no segundo parto, a resposta imune torna-se mais pronunciada, causando a doença hemolítica do recém-nascido.

Há alguns procedimentos que podem ser utilizados para evitar a doença: a) dar ao potro alimentação artificial nas primeiras 36 horas para evitar o colostro contendo o antígeno  $A^+$ ; b) usar uma mãe adotiva que também seja  $A^+$ , como o potro, não ocorrendo, nesse caso, o anticorpo. Maiores detalhes podem ser encontrados em Nicholas (1987).

A importância em se conhecer esses grupos sanguíneos está relacionada ao fato de que determinados tipos de sangue conferem maior sobrevivência antes e após o nascimento e também estão relacionadas à resistência a certas moléstias e com outros atributos de interesse econômico.

Uma utilidade adicional dos grupos sanguíneos refere-se à correção de erros no registro de um animal - **pedigree** - principalmente quando este foi produzido por inseminação artificial e ocorreu troca de sêmen, o que é, relativamente comum, especialmente em grandes programas de melhoramento, nos quais utiliza-se sêmen de muitos machos. Por exemplo, em programas de melhoramento de galinhas já foram encontrados cerca de 3% de registros errados. Tais erros podem ser facilmente corrigidos por intermédio do exame dos grupos sanguíneos dos genitores e do filho. Essa prática é, portanto, muito valiosa num programa de melhoramento e na correção da genealogia de um animal.

### 8.3 EXEMPLOS DE ALELISMO MÚLTIPLO EM PLANTAS

São conhecidos inúmeros caracteres em plantas, nas quais ocorrem alelos múltiplos. Inicialmente, vamos considerar a série alélica que controla a cor da semente de soja. Ocorrem quatro alelos com a seguinte ordem de dominância:  $I > i^a > i^b > i$ . Em função disso, são possíveis os seguintes genótipos com os respectivos fenótipos:

**Genótipos**II; Ii<sup>a</sup>; Ii<sup>b</sup>; Iii<sup>a</sup>i<sup>a</sup>; i<sup>a</sup>i<sup>b</sup>; i<sup>a</sup>ii<sup>b</sup>i<sup>b</sup>; i<sup>b</sup>i

ii

**Fenótipos**

Hilo e tegumento amarelos

Hilo escuro e tegumento amarelo

Hilo e parte do tegumento que o circunda escuros, enquanto o restante do tegumento é amarelo

Hilo e tegumento escuros

É importante mencionar que outros genes estão também envolvidos na expressão de cor do tegumento, ocasionando modificações dos fenótipos determinados pela série alélica I.

Como já foi enfatizado, são inúmeros os exemplos de alelismo múltiplo em plantas. No entanto, um dos principais exemplos é o fenômeno da incompatibilidade que corresponde ao insucesso de certos cruzamentos em produzir descendentes, ou a incapacidade de ocorrer autofecundação - autoincompatibilidade. Esse fenômeno foi descrito pela primeira vez em fumo - *Nicotiana* - sendo a causa demonstrada pela incapacidade de crescimento do tubo polínico, ou por um crescimento muito lento, ineficiente para a fertilização.

Cerca de metade das famílias das angiospermas hermafroditas - aproximadamente 150 famílias - representadas por mais de 3.000 espécies, apresentam esse fenômeno e, entre elas, estão plantas de valor econômico como Rosáceas - ameixeira, macieira; Crucíferas - repolho, brócolis; Leguminosas - crotalária; Gramíneas - centeio; Esterculiáceas - cacau; Passifloráceas - maracujá; Composta - girassol; Solanáceas - fumo, certos tomates, etc.

Mediante cruzamentos apropriados, foi constatado que a incapacidade de crescimento do tubo polínico é explicada, geneticamente, pela presença de uma séria alélica. Os alelos dessa série são simbolizados pela letra S - do inglês self-incompatibility, que corresponde à auto-incompatibilidade - e são utilizados expoentes para identificar os diferentes alelos.

Ocorrem dois sistemas de incompatibilidade em angiospermas hermafroditas, controlados pela série alélica S, conhecidos como incompatibilidade gametofítica e esporofítica.

Embora ainda não se conheça completamente a base molecular da incompatibilidade, estudos recentes constataram a formação de uma glicoproteína no estigma da flor, tanto em espécies com incompatibilidade gametofítica quanto em espécies com incompatibilidade esporofítica. Foi verificado que cada alelo da série produz uma glicoproteína específica. Esta só é produzida nos tecidos da flor feminina onde o pólen e o tubo polínico entram em contato, sendo quase a totalidade no estigma. Uma pequena quantidade foi constatada no ovário e acredita-se que seja para assegurar a incompatibilidade.

Em espécies com incompatibilidade gametofítica, verifica-se no estilete a inibição do crescimento do tubo polínico, pelo engrossamento de sua extremidade, que pode rebentar-se em consequência da deposição de calose. Nas espécies com incompatibilidade esporofítica, a inibição se dá no estigma e também pela formação de calose em suas células.

A inibição do crescimento do tubo polínico só ocorre quando o cruzamento é incompatível, isto é, depende da interação entre os produtos dos alelos S idênticos, presentes no pólen e na flor feminina. Assim que esses produtos se encontram, determina-se uma reação de incompatibilidade em poucos minutos. Uma hipótese para explicar tal reação sugere que a glicoproteína produzida por um determinado alelo S, no estigma, determine também a sua formação no pólen ou na célula mãe desse pólen. Quando ocorre a polinização, as duas moléculas se combinam para formar dímeros.

Adotando essa hipótese e considerando que a reação de duas substâncias específicas é semelhante às reações do tipo antígeno e anticorpo comentada para os animais, vamos utilizar uma analogia para facilitar o entendimento de incompatibilidade em plantas. Nessa analogia, a glicoproteína presente no pólen será considerada um “antígeno” e a glicoproteína presente no estigma será considerada um “anticorpo”. Esse critério explica todos os resultados genéticos obtidos a partir de cruzamentos envolvendo os dois sistemas de incompatibilidade.

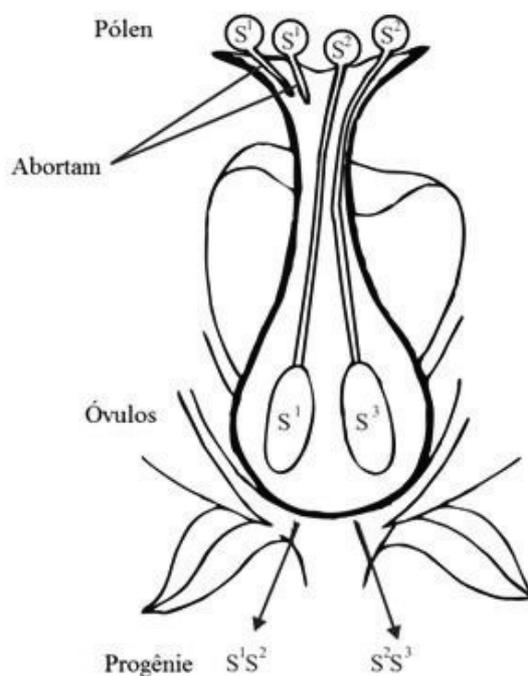
#### **Incompatibilidade Gametofítica**

No sistema gametofítico, o fenótipo do pólen, para a reação de incompatibilidade é determinado pelo alelo S que ele possui. Na flor feminina, cada alelo S é responsável por uma glicoproteína específica, ocorrendo, portanto, uma interação alélica do tipo codominância. Assim, no cruzamento ( $\sigma$ )  $S^1S^2 \times (\text{♀}) S^1S^3$  é produzido o resultado mostrado na Figura 8.3.

Nesse cruzamento, o genitor masculino formou dois tipos de grãos de pólen,  $S^1$  que produziu o “antígeno” 1 e  $S^2$  que produziu o “antígeno” 2. Na flor feminina, o genótipo  $S^1S^3$  condicionou a produção dos “anticorpos” anti 1 e anti 3. Como a reação é específica, quando se encontram “antígenos” e “anticorpos” de mesmo número, eles são bioquimicamente afins e é a causa do impedimento de crescimento do tubo polínico, ocorrendo, assim, o aborto do pólen. Portanto, no cruzamento considerado, ocorreu 50% de aborto de pólen -  $S^1$  - e formaram os descendentes  $S^1S^2$  e  $S^2S^3$ .

No sistema gametofítico de incompatibilidade, ocorrerá aborto do pólen sempre que houver alelos em comum nos genitores masculinos e femininos. Quando os dois alelos do genótipo de um genitor são os mesmos do outro genitor, correspondendo, portanto, a uma autofecundação, ou a um cruzamento onde os genótipos dos genitores são idênticos, ocorrerá 100% de aborto de pólen e não formará nenhum descendente. Por outro lado, quando os genótipos dos genitores não possuem nenhum alelo em comum, não ocorrerá aborto de pólen e serão produzidos todos os descendentes esperados. Quando apenas um alelo está em comum nos dois genitores, como no exemplo apresentado, nunca será recuperado o genótipo materno entre os descendentes. Em função desse mecanismo de incompatibilidade, nunca chegam a ser formados genótipos homocigóticos para os alelos S em condições naturais.

Para melhor esclarecer sobre o efeito da autoincompatibilidade gametofítica considere os cruzamentos apresentados na Tabela 8.3. Três situações podem ocorrer: 1) quando os dois alelos são idênticos nos dois genitores, nenhum descendente é produzido; 2) quando apenas um dos alelos é idêntico nos dois genitores, são produzidos dois tipos de descendentes, cada um com frequência de  $\frac{1}{2}$ ; 3) quando todos os alelos são diferentes nos dois genitores, não ocorre aborto de pólen e são produzidos quatro tipos de descendentes na proporção de  $\frac{1}{4}$ .



**FIGURA 8.3.** Incompatibilidade gametofítica. Resultado do cruzamento (♂)  $S^1S^2 \times S^1S^3$  (♀). Observe que em razão de o alelo  $S^1$  estar presente nos dois genitores, apenas o grão de pólen portador desse alelo é abortado no estigma.

**TABELA 8.3.** Resultados de cruzamentos entre plantas de fumo, que possuem incompatibilidade gametofítica, portadoras de diferentes alelos da série S.

Genitor Feminino	Genitor Masculino		
	$S^1S^2$	$S^2S^3$	$S^3S^4$
$S^1S^2$	-	$\frac{1}{2} S^1S^3$	$\frac{1}{4} S^1S^3$
	-	$\frac{1}{2} S^2S^3$	$\frac{1}{4} S^2S^3$
	-	-	$\frac{1}{4} S^1S^4$
	-	-	$\frac{1}{4} S^2S^4$
$S^2S^3$	$\frac{1}{2} S^1S^2$	-	$\frac{1}{2} S^2S^4$
	$\frac{1}{2} S^1S^3$	-	$\frac{1}{2} S^3S^4$

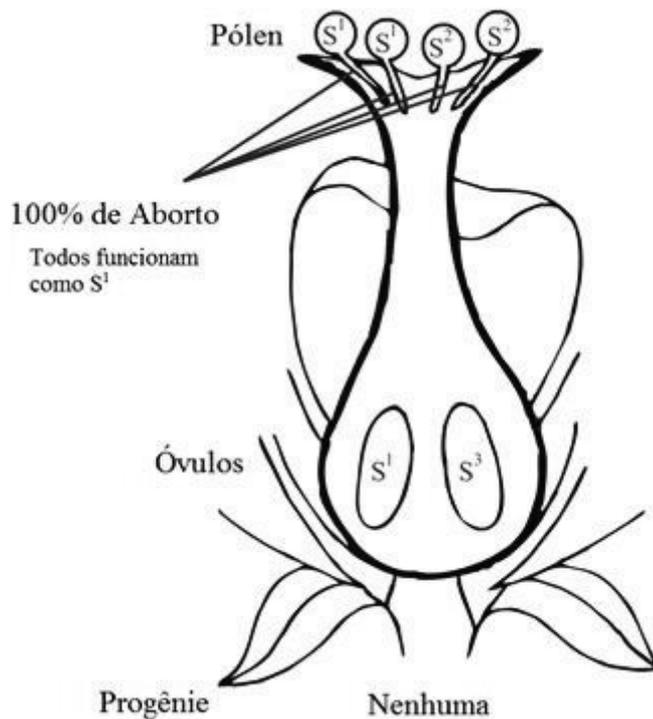
O conhecimento desse fenômeno é de grande importância. Em várias fruteiras da família Rosácea, por exemplo, é muito comum ocorrerem cultivares incompatíveis, havendo a necessidade de plantar nos pomares cultivares compatíveis para se conseguir a produção de frutos. É evidente que numa população de plantas, quanto maior o número de alelos da série, menor a possibilidade de ocorrer cruzamentos incompatíveis e também ocorrer falha na produção de sementes. Pode-se demonstrar que a frequência de cruzamentos incompatíveis na população é função da expressão  $2/m$ , em que  $m$  é o número de alelos da série  $S$ .

### Incompatibilidade Esporofítica

No sistema esporofítico, o fenótipo do pólen, para a reação de incompatibilidade, é determinado pelo genótipo da célula mãe do grão do pólen, em vez de seu próprio alelo  $S$ . Isso ocorre porque a produção do “antígeno” se dá na célula mãe do grão de pólen, para em seguida terminar a meiose e formar os grãos de pólen, os quais já recebem o “antígeno”. Como a célula mãe do grão de pólen é diplóide, ocorre interação entre os alelos de incompatibilidade, o que determina a produção do “antígeno”. Uma interação frequentemente observada é a dominância completa e, nesse caso, forma-se apenas o “antígeno” em decorrência do alelo dominante, que é passado a todos os grãos de pólen. O “anticorpo” é formado no pistilo, de modo semelhante ao sistema gametofítico, com a diferença de que a interação alélica frequentemente observada é também a dominância completa.

Considerando o cruzamento ( $\sigma$ )  $S^1S^2 \times (\text{f}) S^1S^3$  e admitindo que o alelo  $S^1$  seja o dominante nos dois genitores, tem-se o resultado apresentado na Figura 8.4. Nesse cruzamento, o genitor masculino produziu dois tipos de grãos de pólen,  $S^1$  e  $S^2$ , e ambos receberam o único “antígeno” 1 formado pela célula mãe dos grãos de pólen, em razão de ser o alelo  $S^1$  dominante. A flor feminina também formou um único “anticorpo” anti 1, pela mesma razão do alelo  $S^1$  ser dominante. Assim, todos os grãos de pólen eram portadores do “antígeno” 1, que tinha afinidade com o “anticorpo” anti 1, resultando em 100% de aborto do pólen e não produzindo nenhum descendente.

Apesar do sistema gametofítico ser o mais comum e conhecido há mais tempo, a autoincompatibilidade esporofítica também ocorre em muitas espécies importantes, como, por exemplo, nas brássicas: brócolis, repolho e couve flor. Para melhor entender esse mecanismo, considere os cruzamentos apresentados na Tabela 8.4. Nesses cruzamentos, foi considerado que o alelo de menor expoente é dominante aos alelos de maior expoente em todos os genótipos. Nos exemplos, ocorrem cruzamentos com 100% de aborto de pólen e nenhum descendente, quando o alelo dominante é comum nos dois genitores. Nos demais cruzamentos são formados todos os descendentes esperados, na proporção de  $1/4$ . É importante observar que entre os descendentes ocorrem alguns homozigotos, ao contrário do que se observou para a autoincompatibilidade gametofítica.



**FIGURA 8.4.** Incompatibilidade esporofítica. Resultado do cruzamento (♂) S<sup>1</sup>S<sup>2</sup> x S<sup>1</sup>S<sup>3</sup> (♀). Observe como há dominância de S<sup>1</sup> em relação a S<sup>3</sup>, nenhum dos grãos de pólen consegue penetrar no ovário não havendo produção de sementes.

**TABELA 8.4.** Resultados de cruzamentos de plantas de brócolis, que possuem incompatibilidade esporofítica, portadoras de diferentes alelos S.

Genitor Feminino	Genitor Masculino		
	S <sup>1</sup> S <sup>2</sup>	S <sup>2</sup> S <sup>3</sup>	S <sup>3</sup> S <sup>4</sup>
S <sup>1</sup> S <sup>2</sup>	-	S <sup>1</sup> S <sup>3</sup>	S <sup>1</sup> S <sup>3</sup>
	-	S <sup>1</sup> S <sup>3</sup>	S <sup>1</sup> S <sup>4</sup>
	-	S <sup>2</sup> S <sup>2</sup>	S <sup>2</sup> S <sup>3</sup>
	-	S <sup>2</sup> S <sup>3</sup>	S <sup>2</sup> S <sup>4</sup>
S <sup>2</sup> S <sup>3</sup>	S <sup>1</sup> S <sup>2</sup>	-	S <sup>2</sup> S <sup>3</sup>
	S <sup>1</sup> S <sup>3</sup>	-	S <sup>2</sup> S <sup>4</sup>
	S <sup>2</sup> S <sup>2</sup>	-	S <sup>3</sup> S <sup>3</sup>
	S <sup>2</sup> S <sup>3</sup>	-	S <sup>3</sup> S <sup>4</sup>

Os mecanismos de incompatibilidade favorecem os cruzamentos entre genótipos diferentes, evitando, desse modo, a formação de homocigotos, que podem ser prejudiciais para a adaptação de uma espécie, quando unem em um genótipo alelos deletérios ou letais.

O conhecimento de incompatibilidade é importante para o melhoramento genético das plantas que a possui, como as crucíferas. Uma operação que se torna mais facilitada, graças à incompatibilidade, é a produção de híbridos. Nesse caso, quando se deseja produzir sementes híbridas, a partir do cruzamento de duas linhagens, por exemplo  $S^1S^1$  e  $S^2S^2$ , basta plantá-las no campo, em fileiras alternadas, e todas as sementes produzidas serão híbridas.

A multiplicação das linhagens homocigóticas para produzir novos híbridos é possível mediante a autofecundação artificial, na fase de botão floral, quando, provavelmente, ainda não se formou o “anticorpo” no pistilo, que condiciona a incompatibilidade na autofecundação natural. Atualmente, com o desenvolvimento das técnicas de cultura de tecidos, o processo tornou-se mais fácil, pela possibilidade de multiplicar as linhagens autoincompatíveis por via assexuada.

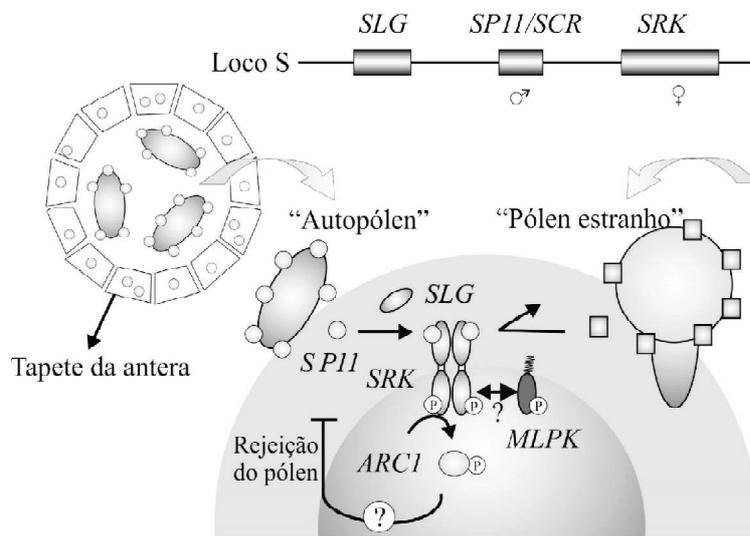
Vale salientar também que em algumas espécies do gênero *Eucalyptus* é frequente a ocorrência de autoincompatibilidade. Em um povoamento da espécie *Eucalyptus leucoxylon*, por exemplo, foi constatado que em 57% das plantas não ocorria autofecundação (Ellis e Sedgley, 1993). O mecanismo envolvido foi atribuído, em parte, à ocorrência de macho-esterilidade (Capítulo 16), mas, principalmente, ao fenômeno de autoincompatibilidade.

A identificação de plantas autoincompatíveis em eucaliptos é muito promissora, por possibilitar a obtenção de sementes híbridas, a baixo custo, pois não haverá necessidade de se proceder cruzamentos artificiais. Basta, para isso, colocar a planta autoincompatível nos campos de produção de sementes, em espaços regulares entre outras árvores que apresentem boa combinação com a referida planta. Toda semente coletada na planta autoincompatível será, evidentemente, híbrida, uma vez que o pólen é oriundo das plantas vizinhas. A manutenção e ampliação da planta autoincompatível é efetuada por meio de propagação assexuada. A empresa Aracruz Celulose, no estado do Espírito Santo, encontrou uma planta provavelmente autoincompatível e a utiliza na produção de sementes híbridas utilizando procedimento semelhante ao relatado.

A base molecular da incompatibilidade é amplamente estudada e é mais complexa do que colocado aqui. O box 8.1 ilustra os modelos moleculares dos sistemas de incompatibilidade esporofítica e gametofítica.

### BOX 8.1 - BASE MOLECULAR DOS SISTEMAS DE AUTOINCOMPATIBILIDADE EM PLANTAS

Embora tenha sido comentado no texto que a autoincompatibilidade é decorrente de um gene com vários alelos, trabalhos mais recentes em biologia molecular apontam que o sistema é bem mais complexo. De fato, o loco S consiste de pelo menos duas unidades intimamente ligadas, uma funcionando como responsável pela expressão da incompatibilidade no tecido feminino (determinante feminino) e outra como determinante masculino. O sistema de reconhecimento do pólen se dá pela interação proteína-proteína dos dois determinantes.



Fonte: Takayama, Isogai (2005).

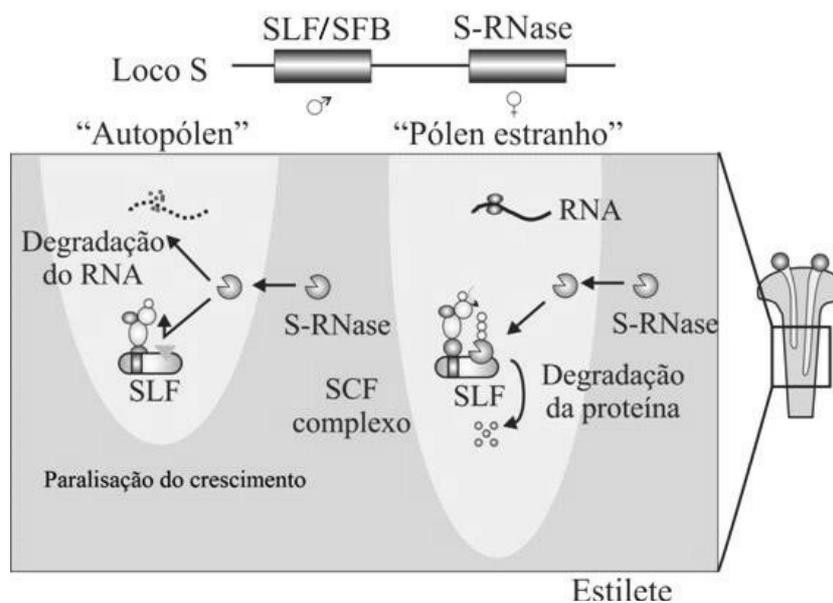
#### Modelo molecular da autoincompatibilidade esporofítica em Brassicaceae:

Nas brássicas ocorrem de 30 a 50 alelos de autoincompatibilidade e a rejeição do pólen se dá pela falta de hidratação e a rápida paralisação do crescimento do tubo polínico na superfície do estigma. O loco S consiste de três genes *SLG*, *SRK* e *SPI1*. Os determinantes femininos são o *SLG* (glicoproteína do loco S) e a receptor kinase do loco S (*SRK*) que se localizam na membrana plasmática das células da papila do estigma. O determinante masculino é a proteína *SPI1*, que se expressa predominantemente no tapete das anteras e se acumula na superfície do pólen durante a sua maturação. Na polinização, a *SPI1* penetra na parede celular da papila e se liga à *SRK* de forma específica. Essa ligação induz a autofosforilação da *SRK* e desencadeia uma cascata de sinais que resulta na

rejeição do próprio pólen. A *SLG* não é essencial para o reconhecimento do pólen, mas aumenta a reação de autoincompatibilidade em alguns genótipos.

**Modelo molecular da autoincompatibilidade gametofítica em Solanaceae, Rosaceae e Scrophulariaceae.**

O loco S consiste de dois genes, *S-RNase* e *SLF/SFB*. O determinante feminino é a *S-RNase*, uma glicoproteína que é secretada em grandes quantidades na matriz extra celular do estigma. Na polinização, a *S-RNase* é absorvida pelo tubo polínico e funciona como uma citotoxina que degrada o RNA do pólen. Embora a *S-RNase* penetre no tubo polínico, independentemente de seu genótipo, a degradação do RNA ocorre somente no próprio pólen. A *SLF/SFB* é o determinante masculino e é membro de uma família de proteínas que, geralmente, funcionam como componentes de um complexo E3-ubiquitina ligase que media a degradação de *SRNases* de diferentes genótipos, permitindo o crescimento do tubo polínico.



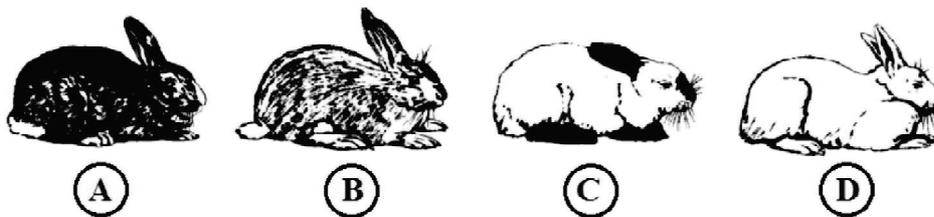
Fonte: Takayama, Isogai (2005).



#### 8.4. TESTE DE ALELISMO

Esse teste é comumente usado para determinar se diversos fenótipos de um dado caráter, observados numa população de indivíduos, resulta da participação de uma série de alelos ou da interação gênica. O teste consiste em cruzar indivíduos puros portadores dos vários fenótipos, dois a dois, em todas as combinações possíveis. São obtidas as gerações  $F_1$  e  $F_2$  e estudadas as segregações fenotípicas nas descendências. Se, em 100% dos cruzamentos o resultado for explicado pela herança monogênica, os vários fenótipos da população são decorrentes do alelismo múltiplo. Porém, se em pelo menos um cruzamento, for constatada uma herança diferente da monogênica, tem-se um caso de interação gênica.

Para exemplificar, vamos considerar o caráter cor da pelagem dos coelhos. Na natureza, ocorrem quatro tipos de coelho (Figura 8.5): o selvagem ou aguti, em que o animal tem pelo preto ou marrom-escuro e apresenta uma faixa amarela próxima à extremidade do pelo; o chinchila, que é cinza-claro e falta a faixa amarela na extremidade do pelo; o himalaia, que possui pelos marrons ou pretos apenas nas orelhas, cauda, focinho e patas, sendo as demais regiões do corpo de pelagem branca, e os olhos cor-de-rosa; o albino, em que o pelo é inteiramente branco e os olhos cor-de-rosa. Para verificar se esses quatro fenótipos são decorrentes de um único gene com vários alelos ou a mais de um gene que se interagem, devemos realizar o teste de alelismo. Para isso, os coelhos portadores dos vários fenótipos serão cruzados dois a dois, em todas as combinações possíveis (Tabela 8.5) e estudadas as segregações fenotípicas nas descendências.



**FIGURA 8.5.** Cor da pelagem em coelhos. A) Aguti ou Selvagem, em que o animal é marrom ou preto com uma faixa amarela na extremidade do pêlo; B) Chinchila, o animal cinza-claro sem a faixa amarela; C) Himalaia, branco com as extremidades pretas; D) Albino, totalmente sem pigmentação.

Observe na Tabela 8.5, que em todos os casos na geração  $F_2$  foi obtida a segregação típica da ocorrência de um único gene, segregação de 3:1. Como está envolvido um único gene e ocorre interação alélica de dominância completa e se observam mais de dois fenótipos é porque esse gene deve possuir mais de dois alelos. Assim, se considerarmos o gene C, teremos os seguintes alelos C - selvagem,  $c^h$  chinchila,  $c^h$  himalaia, c albino. Veja que o alelo

Genética na Agropecuária

C, se expressa na geração  $F_1$  em presença de  $c^{ch}$ ,  $c^h$  e  $c$ , o  $c^h$  manifesta na  $F_1$  o seu fenótipo apenas em presença do albino ( $c$ ), e o alelo  $c^{ch}$  se expressa em  $F_1$ , na presença de  $c^h$  e  $c$ . Depreende-se então que o caráter é controlado por um gene, com 4 alelos e com a seguinte ordem de dominância  $C > c^{ch} > c^h > c$ . Nesse caso, com  $m = 4$ , são possíveis 10 genótipos que expressam quatro fenótipos, ou seja:

<u>Genótipos</u>	<u>Fenótipos</u>
CC, Cc <sup>ch</sup> , Cc <sup>h</sup> , Cc	Selvagem
c <sup>ch</sup> c <sup>ch</sup> , c <sup>ch</sup> c <sup>h</sup> , c <sup>ch</sup> c	Chinchila
c <sup>h</sup> c <sup>h</sup> , c <sup>h</sup> c	Himalaia
cc	Albino

**TABELA 8.5.** Teste de alelismo para o caráter cor da pelagem dos coelhos.

Fenótipo Masculino	Gerações	Fenótipo feminino		
		Chinchila	Himalaia	Albina
Selvagem	F <sub>1</sub>	Selvagem	Selvagem	Selvagem
	F <sub>2</sub>	3 Selvagem: 1 Chinchila	3 Selvagem: 1 Himalaia	3 Selvagem: 1 Albino
Chinchila	F <sub>1</sub>	-	Chinchila	Chinchila
	F <sub>2</sub>	-	3 Chinchila: 1 Himalaia	3 Chinchila: 1 Albino
Himalaia	F <sub>1</sub>	-	-	Himalaia
	F <sub>2</sub>	-	-	3 Himalaia: 1 Albino

Vejamos, agora, um outro exemplo de cor de pelagem, porém em suínos. Na raça Duroc-Jersey, os animais podem ter cor vermelha, areia ou albina. Para verificar como ocorre o controle genético, foi efetuado um teste de alelismo (Tabela 8.6). Veja que nesse caso, na geração  $F_2$ , a segregação nem sempre foi monogênica - soma das proporções fenotípicas igual a 4. Em alguns casos, foi constatada a segregação digênica - soma das proporções fenotípicas de 16. A segregação de 9 vermelho : 6 areia : 1 albino indica a ocorrência de dois genes que se interagem e, portanto, não é um caso de alelismo múltiplo. Do que foi exposto no Capítulo 6, pode-se inferir que estão envolvidos dois genes, no caso denominados de R e S, que atuam do seguinte modo:

<u>Genótipos</u>	<u>Fenótipos</u>
R_S_	Vermelho
R_ss ou rrS_	Areia
rrss	Albino

Na Tabela 8.6, são mostrados os genótipos e fenótipos genitores e dos descendentes da geração  $F_1$ , que explicam as segregações mencionadas em  $F_2$ . Chama a atenção o resultado do cruzamento entre os dois animais de cor areia, que produziu uma geração  $F_1$  vermelha, indicando que os dois animais, apesar de apresentarem o mesmo fenótipo, possuem genótipos diferentes.

**TABELA 8.6.** Teste de alelismo para o caráter cor da pelagem de suínos.

Genótipo e Fenótipo (♂)	Gerações	Fenótipos e Genótipos (♀)			
		Areia (RR ss)		Albino (rr ss)	
Vermelho (RRSS)	F <sub>1</sub>	RRSs	Vermelho	RrSs	Vermelho
	F <sub>2</sub>	3 RRS_	Vermelho	9 R_S_	Vermelho
		1 RRss	Areia	3 R_ss	Areia
				3 rrS_	Areia
			1 rrss	Albino	
Areia (rrSS)	F <sub>1</sub>	RrSs	Vermelho	rrSs	Areia
	F <sub>2</sub>	9 R_S_	Vermelho	3 rrS_	Areia
		3 R_ss	Areia	1 rrss	Albino
		3 rrS_	Areia		
		1 rrss	Albino		

### PROBLEMAS PROPOSTOS

1. Suponha que um caráter, em uma dada espécie vegetal diplóide, seja controlado por um gene com dois alelos.
  - a) Quantos genótipos são possíveis na população?
  - b) Quantos fenótipos são possíveis, considerando a interação de dominância completa?
  - c) Quantos fenótipos são possíveis, considerando a dominância incompleta?
  - d) Se o referido gene tivesse 10 alelos, qual seria sua resposta para os itens a, b e c?
  - e) Quantos genótipos homocigóticos seriam encontrados na população?
  
2. Por que o alelismo múltiplo não tem importância para um único indivíduo de uma espécie diplóide?
  
3. Numa espécie vegetal diplóide, o gene para as tonalidades de cor da flor possui 12 alelos.
  - a) Qual é o número mínimo de indivíduos necessário para conter todos os alelos?
  - b) Qual é o número de genótipos diferentes esperado na população?
  
4. No caupi (*Vigna unguiculata*), a cor da vagem imatura é controlada por um gene com 5 alelos, com a seguinte ordem de dominância:  $p^g$  - vagem púrpura com suturas verdes  $>$   $p^s$  - vagem verde com suturas púrpuras  $>$   $p^o$  - vagem verde com sutura ventral púrpura  $>$   $p^t$  - vagem com extremidade púrpura  $>$   $p$  - vagem verde.
  - a) Numa população contendo todos os alelos, quantos genótipos homocigóticos e heterocigóticos são esperados?
  - b) Quantos fenótipos são esperados e quais as constituições genotípicas possíveis dos indivíduos para cada fenótipo?
  
5. Um determinado gene A possui três alelos ( $A^1, A^2, A^3$ ) e a ordem de dominância é:  $A^1 = A^2 > A^3$ .
  - a) Qual é o número possível de genótipos heterocigóticos e homocigóticos na descendência?
  - b) Qual é o número esperado de fenótipos?

- c) Se for incluída mais a seguinte série alélica  $A^4 > A^5 = A^6$ , sendo que todos estes dominam os alelos de menor expoente, quais as novas respostas para as perguntas formuladas anteriormente?
6. Na alface, a presença de antocianina na folha é condicionada por um gene com três alelos. O alelo R é responsável pela cor vermelha, r' por manchas avermelhadas e r por vermelho-claro. A ordem de dominância é  $R > r' > r$ . Em um campo, foram semeadas três cultivares homozigóticas, sendo 35% vermelhas, 20% com manchas avermelhadas e 45% vermelho-claras, as quais cruzaram-se livremente. Se o agricultor plantar uma amostra das sementes colhidas no campo, qual será a proporção genotípica e fenotípica nesse novo plantio?
7. Na ameixa, ocorre incompatibilidade gametofítica. Dois agricultores resolveram formar um pomar de ameixeiras. O primeiro, desejando uniformidade, plantou apenas uma cultivar no seu pomar. Já, o outro utilizou cinco cultivares para formar o seu pomar. Considerando que as condições ambientais sejam as mesmas, qual dos dois agricultores terá mais sucesso? Justifique sua resposta.
8. Em fumo, ocorre incompatibilidade gametofítica. Foi obtido uma nova cultivar com 6 alelos -  $S^1, S^2, S^3, S^4, S^5, S^6$  - que controlam a incompatibilidade.
- a) Quantos genótipos para essa série alélica são esperados nessa cultivar?
- b) Se em um campo ocorrerem todos esses genótipos com a mesma frequência, qual será a proporção de gametas abortados, considerando que os cruzamentos ocorram inteiramente ao acaso?
9. Mostre que em uma espécie que possui incompatibilidade gametofítica a proporção de gametas abortados é fornecida por  $2/m$ , em que m é o número de alelos de incompatibilidade existente na espécie.
10. No repolho, ocorre incompatibilidade esporofítica. Em uma população que está sendo melhorada ocorrem os genótipos  $S^1S^2, S^2S^3, S^3S^4$  em igual frequência.
- a) Admitindo-se que a ordem de dominância seja  $S^1 > S^2 > S^3 > S^4$ , qual a proporção de acasalamentos incompatíveis?
- b) Como proceder, utilizando esse fenômeno, para obter uma cultivar híbrida de repolho, a partir de duas linhagens provenientes dessa população?

Genética na Agropecuária

11. Supondo que na espécie de *Eucalyptus* que você irá trabalhar ocorra auto-incompatibilidade, pergunta-se:
  - a) Como proceder para identificar as plantas autoincompatíveis nas plantações?
  - b) Como manter essas plantas?
  - c) Qual o procedimento para se produzir sementes híbridas de eucaliptos utilizando essas plantas?
  
12. Suponha que você identifique um novo sistema de grupos sanguíneos em coelhos. Como você procederia para verificar se o controle genético é decorrente de uma série de alelos múltiplos?

# 9 LIGAÇÃO, PERMUTA GENÉTICA E PLEIOTROPIA

## 9.1 INTRODUÇÃO

Logo após a redescoberta das leis mendelianas, foram realizados inúmeros trabalhos visando a explicar a herança de vários caracteres nas mais diversas espécies de plantas e animais. No estudo da herança da forma do fruto e do tipo de inflorescência em tomateiro, foram obtidos os resultados apresentados na Tabela 9.1.

**TABELA 9.1.** Segregações obtidas no estudo da herança da forma do fruto e no tipo de inflorescência do tomateiro.

Fenótipos	Gerações				
	P <sub>1</sub> (Yellow Pear)	P <sub>2</sub> (Grape Cluster)	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	Cruzamento teste
Redondo, simples			15	126	23
Redondo, composta		25		63	85
Alongado, simples	23			66	83
Alongado, composta				4	19
Total	23	25	15	259	210

Considerando cada caráter isoladamente, podemos notar que a herança é monogênica, com dominância completa do alelo que confere fruto redondo (**O**) em relação a fruto alongado (**o**) de modo que na geração F<sub>1</sub> todas as plantas apresentaram frutos redondos e, na geração F<sub>2</sub>, observaram-se 189 plantas com frutos redondos e 70 com frutos alongados, uma proporção próxima de 3:1 ( $\chi^2 = 0,57$ ). De modo semelhante, para o tipo de inflorescência, todas as plantas F<sub>1</sub> apresentaram inflorescência simples e na F<sub>2</sub> ocorreram 192 plantas com inflorescência simples (**S**) e 67 com inflorescência composta (**s**), também próxima a 3:1 ( $\chi^2 = 0,10$ ). Porém, quando se analisam os dois caracteres simultaneamente, nota-se que a proporção fenotípica observada na F<sub>2</sub> não é explicada pela lei da distribuição independente, a qual corresponde à lei do produto de probabilidades, como visto no Capítulo 5, ou seja, (3:1)(3:1) = 9:3:3:1. Outro resultado observado, que também não é explicado por essa lei, é

o do cruzamento teste, cuja proporção fenotípica observada é nitidamente diferente da proporção esperada com base na distribuição independente, que corresponde a 1:1:1:1. As comparações destas frequências observadas (FO) e esperadas (FE) foram feitas pelo teste  $\chi^2$ , como apresentado na Tabela 9.2.

Como visto no Capítulo 5, a distribuição independente ocorre quando os genes considerados estão em cromossomos diferentes. Uma vez que os resultados da Tabela 9.2 excluem a ocorrência de distribuição independente, pode-se deduzir que os genes em apreço estão no mesmo cromossomo, isto é, **ligados**.

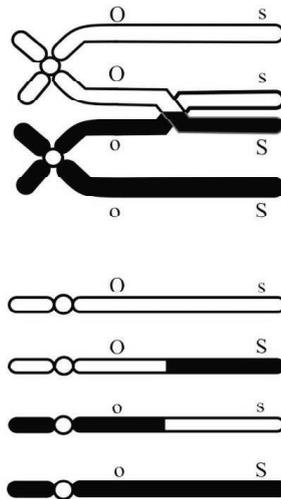
A ocorrência de dois ou mais genes em um mesmo cromossomo já era uma teoria altamente previsível, pois, como se sabe, cada espécie possui milhares de genes que devem estar distribuídos em alguns poucos cromossomos. No tomateiro -*Lycopersicon esculentum* -, por exemplo, ocorrem somente 12 pares de cromossomos e já foram descritos mais de mil genes. Todos os genes situados em um dado cromossomo constituem um **grupo de ligação**. Portanto, o tomateiro, com 12 pares de cromossomos, possui 12 grupos de ligação e cada grupo possui em média cem genes, considerando apenas aqueles já identificados. Se considerarmos que as estimativas do número de genes em organismos eucariontes variam de 30 mil a 40 mil, conclui-se que o número de genes em cada cromossomo é da ordem de milhares.

**TABELA 9.2.** Teste  $\chi^2$  dos resultados observados na  $F_2$  e no cruzamento teste, admitindo a ocorrência de distribuição independente.

Fenótipos	Geração $F_2$			Cruzamento teste		
	FO	FE	desvio	FO	FE	desvio
Redondo, simples	126	145,7	- 19,7	23	52,5	- 29,5
Redondo, composta	63	48,6	14,4	85	52,5	32,5
Alongado, simples	66	48,6	17,4	83	52,5	30,5
Alongado, composta	4	16,1	- 12,1	19	52,5	- 33,5
Total	259	259,0	$\chi^2 = 22,25^{**}$	210	210,0	$\chi^2 = 75,79^{**}$

Como se sabe, durante a meiose os cromossomos são puxados para os polos das células e todos os genes que se localizam em um mesmo cromossomo deveriam segregar juntos. No entanto, se isso tivesse sido observado para as características consideradas, no cruzamento teste seriam observados apenas os fenótipos paternos. Contudo, surgiram descendentes portadores de fenótipos dos dois genitores simultaneamente e que são chamados de **fenótipos recombinantes**. Esses recombinantes somente foram formados porque, durante o processo de formação dos gametas, ocorreu a **permuta genética** (Figura 9.1), isto é, um

fenômeno que permite a troca de segmentos homólogos de cromátides não irmãs. Quando os genes estão muito próximos no cromossomo, a separação deles não se realiza e, nesse caso, dizemos que ocorre **ligação completa**; quando há permuta genética, dizemos que a **ligação é parcial**.



**FIGURA 9.1.** Representação da permuta genética, mostrando os produtos meióticos parentais e recombinantes.

Quando temos genes ligados como nesses genitores, ou seja, um alelo dominante e um recessivo em cada cromossomo, denominamos a ligação de **fase de repulsão** ou **configuração trans**. Por outro lado, quando em um cromossomo estão ligados os alelos dominantes dos dois genes ou os dois recessivos, denominamos a ligação de **fase de atração** ou **configuração cis**. No exemplo da Tabela 9.1, essa última fase de ligação é encontrada nos indivíduos recombinantes da  $F_2$  e do cruzamento teste.

Quando lidamos com genes ligados, a representação dos genótipos é feita de forma fracionária, que consiste em colocar no numerador os alelos que estão situados num cromossomo e no denominador os que estão no seu homólogo. Assim, a representação do genótipo do genitor Yellow Pear é  $oS/oS$ , do Grape Cluster é  $Os/Os$  e das plantas  $F_1$  é  $Os/oS$ . A necessidade de se utilizar essa notação para genes ligados é poder representar no genótipo a fase de ligação dos genes, o que permite identificar os gametas parentais e recombinantes, além de distinguir os casos em que os genes apresentam distribuição independente.

## 9.2 ESTIMATIVA DA FREQUÊNCIA DE RECOMBINAÇÃO (FR)

Quando não há permuta genética, somente são formados gametas paternos, enquanto que, quando há permuta, são formados gametas paternos e recombinantes em proporções iguais (Figura 9.1).

Geralmente, não ocorre permuta genética entre dois genes em todos os meiócitos, de modo que a frequência de gametas recombinantes é sempre menor que 50 por cento.

A estimativa da frequência de permuta pode ser obtida a partir da descendência de um cruzamento teste ou da geração  $F_2$ . No cruzamento teste, o testador possui apenas alelos recessivos, de modo que, o fenótipo do descendente será estabelecido em função da constituição genética do gameta oriundo do indivíduo  $F_1$ . Portanto, o emprego dos resultados do cruzamento teste possibilita a estimativa mais fácil da frequência de recombinação (FR), que é dada pela expressão:

$$\text{Frequência de recombinação (FR)} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de recombinantes}}{\text{Total de descendentes do cruzamento teste}} \times 100$$

Como exemplo, vamos utilizar o resultado do cruzamento teste apresentado na Tabela 9.1.

Como vimos, os recombinantes são as 23 plantas com frutos redondos e inflorescência simples e 19 plantas com frutos alongados e inflorescência composta, totalizando 42 indivíduos. O total de descendentes obtidos no cruzamento teste é 210; então, a frequência de recombinação entre os locos **O** e **S** é  $(42/210)100 = 20\%$ .

A descendência do cruzamento teste apresentada na Tabela 9.1 é proveniente do cruzamento de uma planta  $F_1$  - **Os/oS** - com outra de fruto alongado e inflorescência composta - **os/os**. Já foi enfatizado que a proporção fenotípica desses descendentes equivale à proporção de gametas da  $F_1$ ; assim, a frequência de permuta estimada de 20% corresponde aos gametas recombinantes, sendo 10% **OS** e 10% **os**, e os gametas paternos correspondem aos 80% restantes, ou seja, 40% **Os** e 40% **oS**.

Vejamos como proceder para se fazer previsões para a geração  $F_2$ , quando se conhece a frequência de recombinação. Tomemos como exemplo o mesmo cruzamento apresentado na Tabela 9.1. A geração  $F_2$  é obtida a partir da autofecundação das plantas  $F_1$  - **Os/oS** - ou do intercruzamento dessas plantas. Para isso, devemos proceder à união, ao acaso, dos gametas masculinos e femininos produzidos pela planta  $F_1$ , os quais, como foram determinados anteriormente, correspondem aos 80% paternos - 40% **Os** e 40% **oS** - e aos 20% recombinantes - 10% **OS** e 10% **os**. Para facilitar essa operação, vamos utilizar o quadro de Punnett e, para simplificar os cálculos, vamos dividir a frequência de cada gameta por dez para obter-se a frequência de cada descendente, já em porcentagem), o que fornece a seguinte proporção fenotípica esperada (Tabela 9.3):

**TABELA 9.3.** Estimativa da proporção genotípica da  $F_2$ , proveniente do cruzamento das cultivares de tomate Yellow Pear, **oS/oS**, e Grape Cluster, **Os/Os**, considerando-se a frequência de permuta de 20% entre os genes responsáveis pelos caracteres da forma do fruto e do tipo de inflorescência.

Gametas femininos	Gametas masculinos			
	1 OS	4 Os	4 oS	1 os
1 OS	1 OS/OS	4 OS/Os	4 OS/oS	1 OS/os
4 Os	4 Os/OS	16 Os/Os	16 Os/oS	4 Os/os
4 oS	4 oS/OS	16 oS/Os	16 oS/oS	4 oS/os
1 os	1 os/OS	4 os/Os	4 os/oS	1 os/os
Fenótipos	Classe genotípica		Frequência	
redondo, simples	OS/_ _		51%	
alongado, simples	oS/o _		24%	
redondo, composta	Os/_ s		24%	
alongado, composta	os/os		1%	
Total			100%	

Comparemos agora nossa previsão com os resultados observados dos indivíduos da geração  $F_2$  (Tabela 9.1). Na geração  $F_2$ , ocorreram 259 indivíduos. Segundo nossa previsão, esperaríamos 51% de 259 plantas com frutos redondos e inflorescência simples, 24% de 259 com frutos alongados e inflorescência simples, etc. Na Tabela 9.4, estão apresentados os resultados observados e os esperados do cruzamento anteriormente especificado, mostrando que houve um ajustamento quase perfeito  $\chi^2 = 1,30$  NS. Portanto, em casos como esses, o conhecimento da frequência de recombinação permite fazer previsões de descendência.

**TABELA 9.4.** Comparação das segregações fenotípicas observadas e esperadas da geração  $F_2$ , assumindo frequência de permuta de 20% relativa à forma do fruto e tipo de inflorescência.

Fenótipos	Frequências	
	Observadas	Esperadas
Redondo, simples	126	132,09
Alongado, simples	66	62,16
Redondo, composta	63	62,16
Alongado, composta	4	2,59

Essa metodologia para estimar a FR é criticada pelo fato de considerar apenas uma das quatro classes fenotípicas de  $F_2$ . Por isso, tem sido preferido o uso do método chamado **razão de produtos** e que consiste em se estimar um valor **z** a partir de todas as quatro

classes fenotípicas. Com esse valor entra-se em uma tabela de valores **z** e estima-se a frequência de recombinação. O valor **z** é calculado pela expressão:

$$z = \frac{n^{\circ} \text{ recomb. 1} \times n^{\circ} \text{ recomb. 2}}{n^{\circ} \text{ parentais 1} \times n^{\circ} \text{ parentais 2}}$$

Novamente empregando-se os dados da Tabela 9.2 tem-se:

$$z = \frac{126 \times 4}{63 \times 66} = 0,1212$$

Entrando com esse valor na tabela de **z** (Tabela 9.5), encontramos que o valor mais próximo é 0,1211, que corresponde a uma frequência de recombinação de 0,230 ou 23,0%.

Como pode ser observado, as três metodologias fornecem resultados muito próximos (20,0%, 24,86% e 23,0%), demonstrando que todas elas podem ser empregadas para estimar a frequência de recombinação.

**TABELA 9.5.** Frequências de recombinação (FR) em função da razão de produtos (valores z) para genes ligados em repulsão ou atração.

FR	Valores de z		FR	Valores de z	
	Repulsão	Atração		Repulsão	Atração
.005	.000050000	.00003361	.305	.2367	.2228
.010	.00020005	.0001356	.310	.2465	.2328
.015	.0004503	.0003076	.315	.2567	.2432
.020	.0008008	.0005516	.320	.2672	.2538
.025	.001252	.0008692	.325	.2780	.2649
.030	.001804	.001262	.330	.2892	.2763
.035	.002458	.001733	.335	.3008	.2881
.040	.003213	.002283	.340	.3127	.3003
.045	.004070	.002914	.345	.3250	.3128
.050	.005031	.003629	.350	.3377	.3259
.055	.006096	.004429	.355	.3508	.3393
.060	.007265	.005318	.360	.3643	.3532
.065	.008540	.006296	.365	.3783	.3675
.070	.009921	.007366	.370	.3927	.3823
.075	.01141	.008531	.375	.4076	.3977
.080	.01301	.009793	.380	.4230	.4135
.085	.01471	.01116	.385	.4389	.4298
.090	.01653	.01262	.390	.4553	.4467
.095	.01846	.01419	.395	.4723	.4641
.100	.02051	.01586	.400	.4898	.4821
.105	.02267	.01765	.405	.5079	.5007
.110	.02495	.01954	.410	.5266	.5199
.115	.02734	.02156	.415	.5460	.5398
.120	.02986	.02369	.420	.5660	.5603
.125	.03250	.02594	.425	.5867	.5815
.130	.03527	.02832	.430	.6081	.6034
.135	.03816	.03083	.435	.6302	.6260
.140	.04118	.03347	.440	.6531	.6494
.145	.04434	.03624	.445	.6768	.6735
.150	.04763	.03915	.450	.7013	.6985
.155	.05105	.04220	.455	.7266	.7243
.160	.05462	.04540	.460	.7529	.7510
.165	.05832	.04875	.465	.7801	.7786
.170	.06218	.05225	.470	.8082	.8071
.175	.06618	.05591	.475	.8374	.8366
.180	.07033	.05973	.480	.8676	.8671
.185	.07464	.06371	.485	.8990	.8986
.190	.07911	.06787	.490	.9314	.9313
.195	.08374	.07220	.495	.9651	.9651
.200	.08854	.07671	.500	1.0000	1.0000
.205	.09351	.08140	.505	1.0362	1.0362
.210	.09865	.08628	.510	1.0738	1.0736
.215	.1040	.09136	.515	1.1128	1.1124
.220	.1095	.09663	.520	1.1533	1.1526
.225	.1152	.1021	.525	1.1953	1.1942
.230	.1211	.1078	.530	1.2390	1.2373
.235	.1272	.1137	.535	1.2844	1.2819
.240	.1334	.1198	.540	1.3316	1.3282
.245	.1400	.1262	.545	1.3806	1.3762
.250	.1467	.1328	.550	1.4317	1.4260
.255	.1536	.1396	.555	1.4847	1.4776
.260	.1608	.1467	.560	1.5400	1.5312
.265	.1682	.1540	.565	1.5975	1.5868
.270	.1758	.1616	.570	1.6574	1.6446
.275	.1837	.1695	.575	1.7198	1.7045
.280	.1919	.1777	.580	1.7848	1.7668
.285	.2003	.1861	.585	1.8526	1.8316
.290	.2089	.1948	.590	1.9234	1.8989
.295	.2179	.2038	.595	1.9972	1.9689
.300	.2271	.2132	.600	2.0742	2.0417

### 9.3 BASES CROMOSSÔMICAS DA PERMUTA

A permuta genética resulta da troca de partes entre cromátides não irmãs e, portanto, ela deve ocorrer quando os cromossomos homólogos estão pareados. Isso se dá, como sabemos, durante a prófase I da meiose, quando eles se associam de tal maneira que no paquíteno o pareamento ocorre ao longo de todo o seu comprimento. No diplóteno, os centrômeros homólogos começam a se separar uns dos outros, estando os bivalentes unidos só nos pontos em que ocorreram as permutações genéticas, denominadas quiasmas.

Os cromossomos no diplóteno são constituídos de duas cromátides (Capítulo 4). Pode-se demonstrar experimentalmente que os quiasmas representam permutações ocorridas entre cromátides não irmãs (Figura 9.1). É conveniente lembrar que, se ocorresse permuta entre cromátides irmãs, elas não poderiam ser geneticamente identificadas. Um único quiasma num bivalente resulta na formação de duas cromátides não permutadas e de duas cromátides permutadas, isto é, a frequência de recombinação é a metade da frequência de quiasma (Figura 9.1). Assim, se todas as células que sofrem meiose apresentarem essa permuta, teríamos uma situação equivalente à distribuição independente dos dois genes, pois o indivíduo duplo heterozigótico, representado nessa figura, produz os quatro tipos de gametas com a mesma frequência, ou seja, 50% paternais: 25% **oS** e 25% **Os** - e 50% recombinantes: 25% **OS** e 25% **os**.

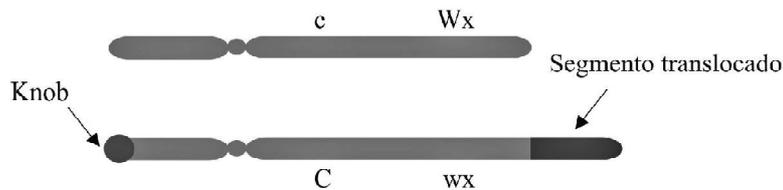
No entanto, são comuns as situações em que não se observa quiasma entre dois genes em todas as células que sofrem meiose. No exemplo apresentado na Tabela 9.1, vimos que a frequência de recombinação é 20% entre os locos **O** e **S**. Como a frequência de quiasma ou de células que sofrem permuta é o dobro da frequência de recombinação, podemos dizer que entre 100 células  $F_1$ , **oS/Os**, apenas em 40 se observam quiasmas entre esses genes, produzindo os quatro tipos de gametas em proporções iguais; isto é, espera-se que sejam produzidos 160 gametas, sendo 80 paternais - 40 **oS** e 40 **Os** - e 80 recombinantes - 40 **OS** e 40 **os**. Nas 60 células  $F_1$  restantes, não se observam quiasmas entre esses genes e, portanto, espera-se que sejam produzidos 240 gametas todos paternais, sendo 120 **oS** e 120 **Os**. Vemos assim que, de um total de 400 gametas, apenas 80 são recombinantes, o que corresponde a uma frequência de recombinação de 20%.

Quando ocorre mais de um quiasma entre dois cromossomos homólogos, as oportunidades para rearranjo dentro dos grupos de ligação aumentam, mas é óbvio que deve ocorrer um número ímpar de quiasmas entre os dois genes para que seja detectada a permuta. Deve ser salientado que o número de quiasmas por cromossomo depende de seu comprimento, variando geralmente de 1 a 10.

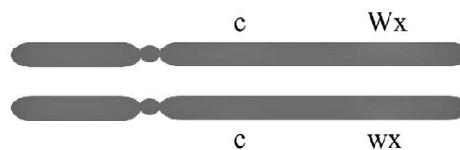
#### 9.4 PROVA CITOGENÉTICA DA OCORRÊNCIA DA PERMUTA

Demonstrar praticamente a ocorrência da permuta genética não é tão fácil como poderíamos imaginar. A dificuldade ocorre porque, em condições normais, os cromossomos de um par de homólogos não se distinguem visivelmente, nem sequer mediante um minucioso exame microscópico. Só em condições excepcionais, quando os cromossomos homólogos estão marcados de algum modo, é que poderemos observar citologicamente a ocorrência da permuta. Essa demonstração foi conseguida por meio de experimentos brilhantemente conduzidos por H.B. Creighton e B. McClintock, trabalhando com milho e C. Stern, trabalhando com mosca das frutas. Será discutido aqui o trabalho realizado com o milho.

No milho, o cromossomo 9 - o segundo mais curto no complemento de 10 pares - normalmente não possui uma pequena protuberância denominada knob. Uma das linhagens utilizadas possuía um dos cromossomos 9 diferente, com um knob no final do braço curto e também com um segmento adicional translocado do cromossomo 8. O outro cromossomo do par era normal, não possuindo nem o knob, nem o segmento translocado. Além disso, sabia-se que no cromossomo 9 ocorriam, entre outros, os seguintes genes: C aleurona colorida; c aleurona incolor; Wx endosperma amiláceo; wx endosperma ceroso. Ambas as características se manifestam logo após a fertilização e, portanto, apresentam xênia. A planta portadora desse cromossomo 9 diferente era também heterozigótica tanto para o gene da aleurona quanto para o gene do endosperma e, a partir de trabalhos anteriores, Creighton e McClintock sabiam em que cromossomo do par estava um determinado alelo de cada gene. Assim, os dois cromossomos 9 dessa planta, a qual foi usada como genitor feminino nos cruzamentos, podem ser identificados citológica e geneticamente e ser esquematizados do seguinte modo:



O indivíduo possuindo tais cromossomos 9 desiguais foram cruzados com um indivíduo do genótipo **cWx/cwx**, além disso, possuindo dois cromossomos 9 sem o knob e sem o segmento adicional do cromossomo 8 - cromossomos 9 normais -, isto é, com a seguinte constituição:



A descendência do cruzamento realizado está esquematizada na Tabela 9.6, mostrando os diversos fenótipos obtidos bem como a configuração dos cromossomos em cada classe. Nota-se entre os descendentes, que a semente com aleurona incolor e endosperma ceroso é um recombinante fenotípico e sua presença só pode ser explicada por meio da permuta entre os alelos **c** e **wx**. Citologicamente, essa permuta foi confirmada porque o descendente incolor ceroso exibiu um dos cromossomos 9 com apenas uma marca numa extremidade - segmento translocado do cromossomo 8 -, indicando que o knob da outra extremidade foi separado juntamente com o alelo **C** pela permuta genética. Os demais recombinantes citológicos também mostraram-se resultantes da permuta, por apresentarem uma única marca em um de seus cromossomos, embora não sejam recombinantes fenotípicos. Portanto, esses resultados comprovam que a permuta envolve a troca de segmentos cromossômicos e também que os genes estão situados nos cromossomos.

**TABELA 9.6.** Descendência do cruzamento de duas plantas de milho, mostrando os recombinantes fenotípicos e citológicos, relativos à cor de aleurona e à presença de amido ou cera no endosperma.

	Gametas Femininos	Gametas Masculinos	
Genitores		Incolor Amido	Incolor Amido
		Colorido/Amido (não encontrado)	Colorido Ceroso
Recombinantes		Incolor Amido	Incolor Ceroso
		Colorido Amido	Colorido Amido

### 9.5 MAPAGENÉTICO

A frequência de permuta é influenciada pela distância entre os genes. Isto é, existe correlação positiva entre a distância de dois genes e a frequência de recombinação entre eles. Já que não se pode medir a distância entre os genes utilizando as unidades de distância normalmente empregadas em microscopia e, em razão do relacionamento geral entre frequência de permuta e distância entre os genes, os geneticistas usam uma unidade arbitrária, chamada **centimorgan - cM -**, para descrever a distância entre genes ligados. Um centimorgan é igual a um por cento de recombinação, isto é, representa a distância linear para a qual um por cento

de recombinantes é observada. Assim, para o exemplo anterior, a distância entre os genes **O** e **S** é de 20 cM. Utilizando esse critério, os geneticistas podem estabelecer a distância entre os genes e assim construir um **mapa genético**, isto é, um diagrama no qual são representados os genes com suas respectivas posições no cromossomo.

### 9.5.1 Teste de Três Pontos

Na elaboração dos mapas genéticos, utiliza-se o processo denominado **teste de três pontos**, que corresponde ao cruzamento teste envolvendo três genes ligados. A necessidade de se considerar três genes ligados (Figura 9.2) é porque dependendo da distância entre dois genes - **A** e **C** - pode ocorrer mais de uma permuta e se elas forem em número par não são produzidos recombinantes, por exemplo, **Ac** e **aC**. Portanto, a permuta dupla só pode ser detectada quando estão envolvidos três genes. Nesse caso, podemos observar, na Figura 9.2, que a permuta dupla produz dois gametas paternos e dois duplos recombinantes. Esses duplos recombinantes diferem dos paternos apenas no gene central - gene **B** - e permitem identificar a ocorrência da dupla permuta. Além do mais, quando se usam apenas dois genes, a distância entre eles poderia ficar subestimada, já que ocorrendo as duplas permutações elas não seriam detectadas.

Vejam agora como esse teste pode ser utilizado na construção de um mapa genético. Para isso serão utilizados os resultados apresentados na Tabela 9.7, provenientes do cruzamento teste:

$$\frac{ABC}{abc} \times \frac{abc}{abc}$$

Nesse cruzamento, foram considerados três caracteres no milho, sendo os seguintes os alelos recessivos e seus fenótipos: **a**. plântulas virescentes; **b**. plântulas brilhantes; **c**. planta macho-estéril - caracterizada por uma distribuição irregular dos cromossomos na meiose. Os genótipos dos descendentes estão representados pelos genótipos dos gametas do genitor **ABC/abc**, que são os únicos responsáveis pelos fenótipos dos descendentes, em razão da interação alélica, nos três locos, ser dominância completa. Porém, subentende-se que cada descendente possua também a combinação **abc** proveniente do gameta do genitor **abc/abc**.

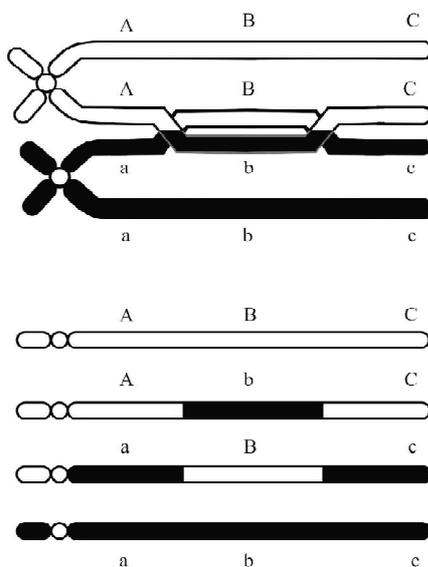
Observando a Tabela 9.7, as seguintes conclusões podem ser tiradas:

a) As combinações paternas - **ABC** e **abc** - foram as que apresentaram maior frequência;

b) A descendência com a permuta dupla - duplos recombinantes - representa o produto de duas probabilidades, isto é, a probabilidade de permuta entre **A** e **B** e a probabilidade de permuta entre **B** e **C**. Como se observa, os tipos com permuta dupla foram os menos frequentes. Desse modo, podemos verificar qual gene está situado na posição central (Figura 9.2). No nosso exemplo, os tipos com permuta dupla são plantas estéreis e

virescentes, de genótipo **aBc**, e planta brilhante **AbC**, pelo fato já apontado de serem menos frequentes.

- a) As combinações paternas
- b) A descendência com a permuta dupla



**FIGURA 9.2.** Representação esquemática de uma permuta dupla e de seus produtos que são duas cromátides não permutadas e duas recombinantes para o gene situado no meio (gene B).

**TABELA 9.7.** Resultado do cruzamento teste, envolvendo três caracteres monogênicos do milho.

Fenótipo da descendência	Genótipo	Frequência observada
Normal	ABC	235
Brilhante, estéril	Abc	62
Estéril	ABc	40
Estéril, virescente	aBc	4
Brilhante, estéril, virescente	abc	270
Brilhante	AbC	7
Brilhante, virescente	abC	48
Virescente	aBC	60
Total		726

Comparando-se os duplos recombinantes com os paternos, pode-se verificar que a ordem dos genes no cromossomo é **ABC**, pois a permuta dupla só alterou o gene **B**, devendo este estar situado na posição intermediária. Os demais resultados da Tabela 9.7 só poderão ser explicados considerando o gene **B** na posição intermediária, isto é, com os três genes

na ordem correta. É importante frisar que na análise de qualquer resultado, se os genótipos dos descendentes forem apresentados como genes na ordem errada, é necessário reescrevê-los na ordem certa, para prosseguir na interpretação dos resultados de um teste de três pontos.

Assim, denominando de região I a situada entre **A** e **B** e de região II a situada entre **B** e **C**, podemos verificar os recombinantes provenientes de uma única permuta em uma região ou outra.

Os genótipos recombinantes da região I, por exemplo, podem ser identificados, comparando-os com os genótipos paternos mais semelhantes, porque eles se originaram de permuta nessa região. Assim, identifica-se o recombinante da região I, **Abc**, pois, ao ser comparado com o paternal mais semelhante **abc**, eles diferem apenas no loco **A**; e também da região I, o recombinante **aBC**, quando comparado com o paternal mais semelhante **ABC**, porque esse recombinante difere do paternal apenas nesse gene. Do mesmo modo, identificam-se os recombinantes da região II. Após identificados todos os genótipos descendentes, temos o seguinte:

<b>ABC</b> - 235	Combinações paternas
<b>abc</b> - 270	
<b>AbC</b> - 7	Combinações com permutas duplas
<b>aBc</b> - 4	
<b>Abc</b> - 62	Combinações provenientes de permuta na região I
<b>aBC</b> - 60	
<b>ABc</b> - 40	Combinações provenientes de permuta na região II
<b>abC</b> - 48	

Sabemos que a frequência de recombinação pode ser transformada diretamente em centimorgan. Podemos então estabelecer as distâncias relativas dos genes no cromossomo do seguinte modo:

#### a) Estimativa da distância na região I

Para se estimar a porcentagem de permuta na região I, isto é, a distância entre os genes **A** e **B**, deve-se considerar todos os recombinantes provenientes da permuta só na região I e também os duplos recombinantes, pois evidentemente eles sofreram também permuta na região I. No exemplo considerado, tem-se: 62 **Abc**, 60 **aBC**, 7 **AbC**, 4 **aBc**, totalizando 133 recombinantes da região I. Desse modo, a porcentagem de permuta nessa região é de  $133/726 \times 100 = 18,3\%$ . Assim sendo, pode-se dizer que a distância entre os genes **A** e **B** é de 18,3 cM.

**b) Estimativa da distância na região II**

De modo semelhante ao procedimento adotado anteriormente, têm-se os indivíduos recombinantes na região II: 40 **ABc**, 48 **abC**, 7 **AbC**, 4 **aBc**, totalizando 99 recombinantes. Assim, a porcentagem de permuta na região II é de  $(99/726) \times 100 = 13,6\%$ . Portanto, a distância entre os genes **B** e **C** é de 13,6 cM.

**c) Estimativa de interferência**

A permuta em uma região pode interferir com a ocorrência de uma outra, nas suas proximidades, e esse fenômeno é denominado **interferência**. Quanto mais próximos estiverem os pontos de permuta, maior é a interferência. Ela pode ser estimada comparando-se a frequência de permutas duplas observadas com as esperadas. Assim, por exemplo, a frequência de permuta dupla observada - FPDO, no caso que está sendo considerado, é fornecida por:

$$FPDO = \frac{N^{\circ} \text{ de duplos recombinantes}}{N^{\circ} \text{ total de descendentes}} \times 100 = \frac{7+4}{726} \times 100 = 1,5\%$$

Como já foi comentado, a frequência de permuta dupla esperada - FPDE - é o resultado de um produto de probabilidades, isto é, a probabilidade de ocorrer permuta nas regiões I e II, simultaneamente. Assim, a frequência de duplas permutações esperadas é fornecida por:

$$FPDE = \frac{\text{Distância na região I} \times \text{Distância na região II}}{100}$$

No exemplo, tem-se:

$$FPDE = \frac{18,3 \times 13,6}{100} = 2,5\%$$

Como pode ser constatado, a FPDO é inferior à FPDE, em razão da ocorrência da interferência, a qual pode ser estimada por:

$$\text{Interferência (I)} = 1 - \frac{FPDO}{FPDE}$$

Para a situação apresentada, tem-se:

$$I = 1 - \frac{1,5}{2,5} = 0,4$$

Assim, a interferência foi de 0,4, significando que 40% das frequências de permutas duplas esperadas não foram observadas. De posse desses dados, pode-se agora esquematizar o mapa genético para esses três genes, ou seja:

a 18,3 b 13,6 c

### 9.5.2 Elaboração do Mapa Genético

A distribuição sequencial dos genes ao longo dos cromossomos de uma espécie constitui o seu mapa genético, em que a distância entre os genes corresponde à frequência de recombinação, como visto anteriormente. Como exemplo, consideremos o mapa genético do milho apresentado na Figura 9.3. Nota-se que os genes são distribuídos no **idiograma** - representação esquemática do complemento cromossômico de uma espécie. Em geral, os locos são representados pelos alelos mutantes, e as distâncias entre eles são indicadas a partir da extremidade do braço curto de cada cromossomo, que recebe o valor zero, e as distâncias entre os locos são somadas até a outra extremidade, determinando, assim, o comprimento do cromossomo. Observe que, apesar de as distâncias representarem a porcentagem de recombinação, a distância máxima não é de 100 unidades, isso porque as distâncias entre os genes adjacentes vão sendo sempre somadas; dessa forma, o comprimento do cromossomo é função das distâncias e do número de genes já identificados.

É importante frisar que dois genes distantes de 50 cM ou mais apresentam segregação semelhante à distribuição independente. Por exemplo, considerando o cromossomo 1 do milho, o alelo **sr<sub>1</sub>** na posição zero distribui-se independentemente do alelo **as** na posição 56 e também de todos os demais locos nas posições superiores.

Para algumas espécies mais estudadas, já existem os **mapas citológicos** e **citogenéticos** e até mesmo os **moleculares**, como será comentado no Capítulo 18. O primeiro representa simplesmente a morfologia do conjunto básico de cromossomos com alguns detalhes estruturais e, no segundo, é feita a localização dos locos no mapa citológico. Essa localização é conseguida relacionando as alterações estruturais dos cromossomos - deleções, inversões, duplicações e translocações, comentadas no Capítulo 14 que são citologicamente visíveis, com os fenótipos observados. É, portanto, um mapa físico dos genes nos cromossomos.

Nesse mapa, a sequência dos genes é a mesma do mapa genético, o que confirma a validade do teste de três pontos, para estabelecer de modo indireto a ordem dos genes nos cromossomos. Há, contudo, ligeiras diferenças nas distâncias entre locos, quando se compara um mapa genético com um mapa citogenético, o que é fácil de compreender, porque no mapa citogenético têm-se as distâncias reais obtidas por observação direta, enquanto no mapa genético as distâncias correspondem às frequências de recombinação que variam ao longo dos cromossomos.

### 9.5.3 Emprego dos Mapas Genéticos

A principal utilidade do mapa genético é possibilitar a previsão do resultado de cruzamentos quando estão envolvidos genes ligados. Para ilustrar o seu emprego vamos utilizar o mesmo mapa apresentado na Figura 9.3. Para isso, vamos considerar que foram cruzadas duas plantas de milho com os genótipos:  $W_s_3 Lg_1 Gl_2/w_s_3 lg_1 gl_2$  x  $w_s_3 lg_1 gl_2/w_s_3 lg_1 gl_2$ .

Nota-se que os genes  $w_s_3$ ,  $lg_1$  e  $gl_2$  situam-se no cromossomo 2, nesta ordem, e, respectivamente, nas posições 0, 11 e 30. Isso equivale a dizer que a distância entre  $w_s_3$  e  $lg_1$  é de 11 cM e entre  $lg_1$  e  $gl_2$  é de 19 cM, isto é,  $30 - 11$ . Supondo ainda que o valor de interferência seja de 0,7, pode-se perguntar quais as proporções fenotípicas esperadas entre os mil descendentes do cruzamento das duas plantas de milho. Como se trata de um cruzamento teste em que uma das plantas é tri-híbrida, as frequências dos gametas produzidos por essa planta correspondem às frequências dos descendentes do cruzamento; assim, basta determinar as frequências dos gametas dessa planta. Para fins didáticos, vamos dividir a resolução em quatro etapas:

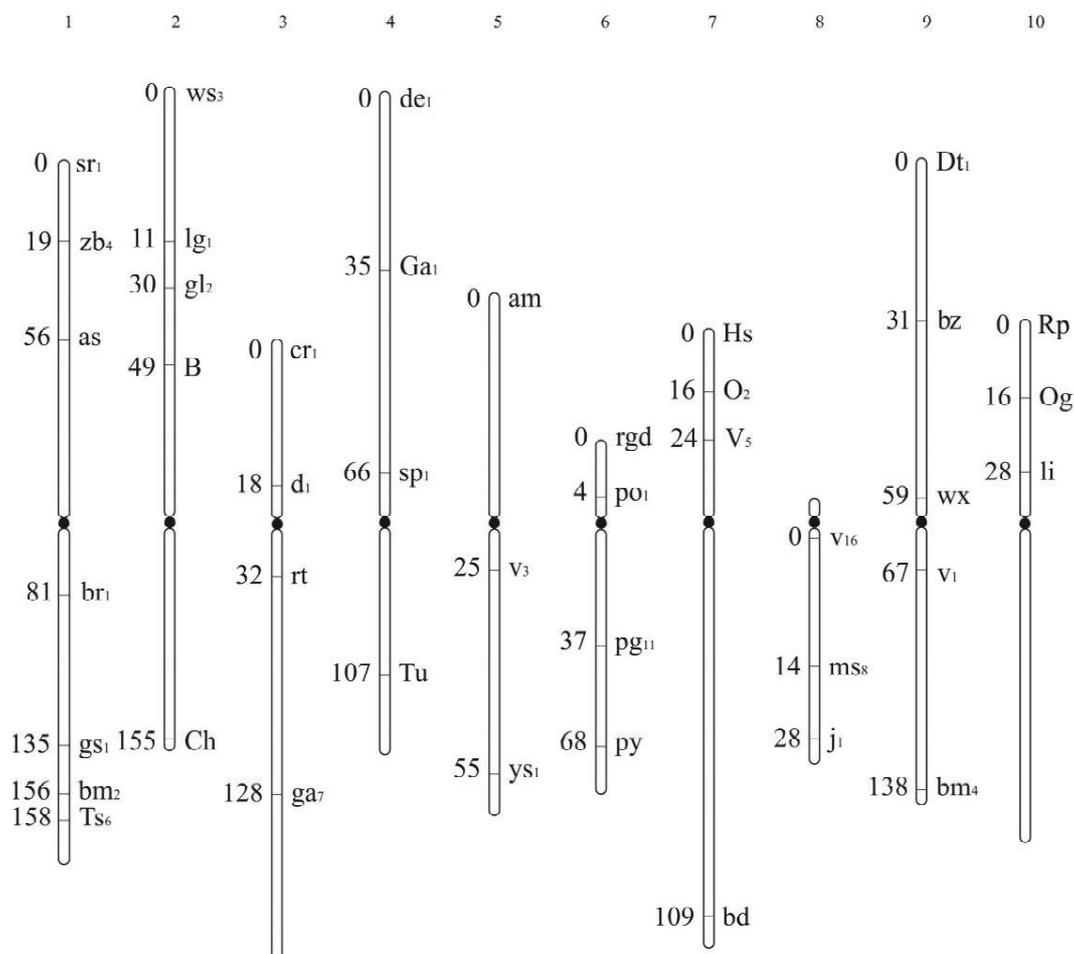
#### a) Estimativa da frequência de duplos recombinantes

$$FPDE = \frac{11 \times 19}{100} = 2,09\%$$

como  $I = 1 - \frac{FPDO}{FPDE}$ , pode-se escrever que  $FPDO = FPDE (1 - I)$ ; assim,

$$FPDO = 2,09 (1 - 0,7) = 0,63\%$$

Como são 1.000 descendentes, esperamos que 6,30 sejam duplos recombinantes, sendo 3,15 de cada tipo.



**FIGURA 9.3.** Mapa genético do milho.

Genes descritos:

Cromossomo 1

sr<sub>1</sub> – folhas estriadas – estrias longitudinais finas durante a vida da planta

zb<sub>4</sub> – zebra

as – assináptico – parcialmente estéril, espigas mal granadas

br<sub>1</sub> – braquítico – internódios curtos, planta com ¼ a ½ da altura normal

gs<sub>1</sub> – listras verdes 1 – listras verde claras

bm<sub>2</sub> – nervura central marrom 2, 40% menos lignina nas folhas e colmo

Ts<sub>6</sub> – “tassel seed” 6 – sementes no pendão

Cromossomo 2

ws<sub>3</sub> – lâmina foliar branca

lg<sub>1</sub> – folha sem lígula 1

Genética na Agropecuária

gl<sub>2</sub> – plântula suave 2

B – “booster” – intensificador da cor da planta

Ch – pericarpo “chocolate”

Cromossomo 3

cr<sub>1</sub> – folhas “onduladas” – folhas largas com a base “ondulada”

d<sub>1</sub> – planta anã 1 – planta com cerca de 1/5 da altura normal

rt – “sem-raíz” – raízes secundárias poucas ou ausentes

ga<sub>7</sub> – fator gametofítico

Cromossomo 4

de<sub>1</sub> – endosperma defeituoso 1

Ga<sub>1</sub> – fertilização gamética diferencial

sp<sub>1</sub> – pólen pequeno

Tu – espiga “tunicata” – glumas circundam cada grão. Tu Tu, geralmente estéril, Tu tu sementes nuas

Cromossomo 5

am – “ameiótico” – esterilidade masculina e feminina de forma parcial ou total

v<sub>3</sub> – plântula “virescente” 3 – plântula amarela-clara mas que se torna verde rapidamente

ys<sub>1</sub> – listra amarela 1 – listras amarelas entre os feixes de nervuras

Cromossomo 6

po<sub>1</sub> – polimitótico – pólen não produzido

pg<sub>11</sub> – plântula verde-pálido 11

py – planta “pigmeu” – plantas pequenas, com folhas pequenas e grossas

Cromossomo 7

o<sub>2</sub> – endosperma opaco – endosperma quebradiço e com altos teores de lisina e de triptofano

v<sub>5</sub> – plântula “virescente” 5 – plântula amarela-esverdeada mas que se torna verde rapidamente

bd – espigas bifurcadas

Cromossomo 8

v<sub>16</sub> – plântula “virescente” 16 – plântulas amarelas-bem claras, tornam-se verdes lentamente

ms<sub>8</sub> – macho-estéril 8

j<sub>1</sub> – japônica 1 – listras variegadas, expressam na planta adulta

Cromossomo 9

Dt<sub>1</sub> – Aleurona manchadas

bz – antocianina bronze

wx – endosperma ceroso – grãos de amido coram-se de vermelho-amarronzado, ao invés de azul, após tratado com iodo

v<sub>1</sub> – plântula virescente 1 – plântula amarelada, torna-se verde rapidamente

bm<sub>4</sub> – nervura marrom 4

Cromossomo 10

Rp – resistência à ferrugem – resistência à raça 3 de *Puccinia sorghi*

Og – listra cor de ouro velho

li – listras – listras longitudinais apenas nas folhas velhas

### b) Estimativa da frequência de recombinantes apenas entre ws<sub>3</sub> e lg<sub>1</sub> - região I

Segundo o mapa genético, na região I ocorrem 11% de permuta, ou seja, são esperados 11 gametas em 100 provenientes de permuta na região I ou 110 em 1.000. Porém, sabemos que a frequência de permuta da região I inclui também os duplos recombinantes, assim, os gametas esperados a partir de permuta apenas na região I correspondem a 103,70, isto é, 110 - 6,30, sendo 51,85 para cada tipo.

### c) Estimativa da frequência de recombinantes apenas entre lg<sub>1</sub> e gl<sub>2</sub> - região II

Utilizando o mesmo raciocínio anterior, a frequência de permuta da região II é 19%, o que significa que são esperados 19 gametas recombinantes na região II em 100 ou 190 em 1.000. Também aqui temos de subtrair os duplos recombinantes para estimarmos o número esperado de gametas provenientes de permuta apenas na região II, que equivale a 183,70 ou 91,85 de cada tipo.

### d) Estimativa da frequência das combinações paternas

Os gametas paternos são aqueles que mantêm as combinações alélicas originais, isto é, são formados sem que ocorra a permuta. Assim, sua frequência pode ser determinada por diferença, uma vez que já estimamos que entre os 1.000 gametas produzidos pelo genótipo  $Ws_3 Lg_1 Gl_2/ws_3 lg_1 gl_2$  são esperados 6,30 gametas duplos recombinantes, 103,70 gametas recombinantes somente na região I e 183,70 gametas recombinantes apenas na região II. Desse modo, o número total de gametas recombinantes corresponde a 293,70. Sendo assim, o número esperado de combinações paternas é  $1.000 - 293,70 = 706,30$  ou 353,15 para cada tipo de gameta. Os diferentes tipos de gametas com os seus respectivos genótipos e frequências são apresentados na Tabela 9.8.

Como vimos, os mapas genéticos são de grande utilidade prática para o geneticista e melhorista, quando estes desejam calcular a probabilidade de conseguir certas combinações genéticas. Desse modo, é possível ao pesquisador prever o tamanho necessário da população experimental, visando a garantir a probabilidade mínima, porém segura e econômica, de obter a combinação ou as combinações desejadas.

**TABELA 9.8.** Tipos de gametas e as respectivas frequências esperadas produzidos em um indivíduo de genótipo  $W_s_3 Lg_1 Gl_2 / w_s_3 lg_1 gl_2$ .

Tipos	Genótipo	Frequência
Paterno	$W_s_3 Lg_1 Gl_2$	353,15
Paterno	$w_s_3 lg_1 gl_2$	353,15
Recombinante da região I	$W_s_3 lg_1 gl_2$	51,85
Recombinante da região I	$w_s_3 Lg_1 Gl_2$	51,85
Recombinante da região II	$W_s_3 Lg_1 gl_2$	91,85
Recombinante da região II	$w_s_3 lg_1 Gl_2$	91,85
Duplo recombinante	$W_s_3 lg_1 Gl_2$	3,15
Duplo recombinante	$w_s_3 Lg_1 gl_2$	3,15
Total		1.000,00

## 9.6 PLEIOTROPIA

A **pleiotropia** é definida como sendo o fenômeno pelo qual um gene controla dois ou mais caracteres. Todo gene que tem sido estudado intensivamente tem se mostrado pleiotrópico em maior ou menor extensão. Existem vários casos citados na literatura; no feijoeiro, por exemplo, o gene P é responsável pela cor do hipocótilo, caule, flores e tegumento das sementes. Assim, esse gene atua em diferentes estádios da vida da planta. O gene pleiotrópico em certos casos afeta a expressão de caracteres que são aparentemente bem diferentes. Isso é o que ocorre no tomateiro, em que um alelo recessivo **dl** reduz a formação de pelos no caule, pedúnculos e anteras. Em consequência, da redução dos pelos nas anteras, elas ficam separadas, ao contrário do que ocorre nas plantas normais, **DI**, em que as anteras são unidas e aparentemente soldadas. Como nas plantas normais, com anteras soldadas, o mecanismo de acasalamento é a autofecundação; nas plantas **dldl** esse mecanismo fica alterado e a taxa de polinização cruzada chega a 50%, resultando numa redução da produção de frutos, de aproximadamente, 90% nas condições de campo.

Um outro exemplo interessante é o do alelo mutante recessivo **dr**, na mamona (*Ricinus communis*), que afeta uma série de características (Tabela 9.9). Muitos alelos mutantes têm sido identificados em organismos superiores, mas nenhum deles afeta tantas características como o alelo **dr**. O interessante desse alelo é que as características afetadas são completamente distintas umas das outras, como, por exemplo, formato da semente e coloração do caule, impossibilitando se conhecer o modo de atuação desse gene.

**TABELA 9.9.** Características afetadas pelo alelo **dr** em mamona.

Caráter ou órgão afetado	Expressão do <b>drdr</b>
Forma da semente	Redonda em vez de alongada
Velocidade de germinação	Lenta
Velocidade de crescimento	Lenta
Comprimento dos internódios	Reduz acentuadamente com a idade
Ramificação	Parcialmente inibida
Época de florescimento	Tardio, cerca de 14 dias
Expressão sexual	Tendência masculina
Antese de flores masculinas	Frequentemente incompleta
Abcisão de flores femininas	Tendem à abscisão permanente
Produção de sementes	Reduzida
Hábito de crescimento	Moita compacta em vez de uma árvore alta e aberta
Vigor da planta	Fraco
Coloração do caule	Pigmentação mais intensa de antocianina com a idade
Necroses do caule	Maior número de lesões necróticas com a idade
Ciclo de vida	Curto. Senescência da planta é acelerada.

Fonte: SHIFRISS (1973).

Em galinhas, as penas arrepiadas afetam várias características e constituem um outro tipo de pleiotropia (Figura 9.4). Um alelo recessivo faz com que as penas da galinha fiquem enroladas para fora, diminuindo assim a proteção contra a perda de calor. Consequentemente, para manter a temperatura, a galinha precisa comer muito mais, aumentar o seu metabolismo e o seu sangue circular muito mais rapidamente. Há uma hipertrofia do aparelho circulatório, digestivo e excretor. Por economia, essa galinha quase não produz ovos. Assim, um só caráter provoca o aparecimento de vários outros. Essa pleiotropia é chamada **sindrômica**, pois existe um conjunto de fenótipos que sempre aparecem juntos e que constituem uma síndrome.

**Figura 9.4.** Galinhas com penas arrepiadas.

## 9.7 CORRELAÇÃO GENÉTICA E SELEÇÃO INDIRETA

A correlação é um parâmetro estatístico que mede o grau de associação entre duas variáveis. Diz-se que duas variáveis estão correlacionadas quando, a variação em uma delas é acompanhada por variação simultânea na outra. A correlação genética procura explicar, por meio de mecanismos genéticos, a variação conjunta de duas variáveis. Nesse contexto, a ligação e pleiotropia são os fenômenos genéticos que explicam a ocorrência de correlações genéticas. Isso ocorre porque quando dois genes estão intimamente ligados eles tendem a ser transmitidos em um mesmo gameta, originando um indivíduo, que poderá ou não expressar os fenótipos correspondentes aos alelos herdados. Situação semelhante irá ocorrer quando o gene em questão é pleiotrópico. Nesse caso, haverá a tendência dos fenótipos, associados a um mesmo alelo, sempre ocorrerem juntos. Por exemplo, em feijoeiro a cor do tegumento do grão e a cor da flor são controladas por um gene pleiotrópico, de forma que sempre que a flor apresentar coloração roxa o grão será preto.

Em função de dois ou mais fenótipos ocorrerem juntos, em razão dos fenômenos de ligação genética ou pleiotropia, muitas vezes enfrentamos dificuldades em determinar qual deles está presente naquele caso específico. Para sanar essa dúvida o melhor procedimento é realizar um cruzamento teste, tendo o cuidado de se obter uma descendência numerosa, pois dessa forma, se os genes forem ligados, haverá uma probabilidade de que ocorra algum indivíduo recombinante. Se este não ocorrer, há um forte indício de que esteja envolvido apenas um gene no controle das características, tratando-se, portanto, de um caso de pleiotropia.

A pleiotropia é um fenômeno de grande importância para os melhoristas de plantas e animais, podendo ser útil ou prejudicial. Ela será útil quando os fenótipos associados forem favoráveis, desse modo, o melhoramento de um deles irá contribuir, ao mesmo tempo, para o melhoramento do outro. Por outro lado, se um fenótipo favorável estiver associado a outros desfavoráveis, o melhoramento do primeiro irá prejudicar os demais.

O conhecimento das correlações genéticas é empregado em inúmeros casos, embora em muitas situações a pessoa que as esteja utilizando não tenha ciência do fenômeno genético envolvido. Por exemplo, os juízes de animais nas exposições agropecuárias baseiam o seu julgamento em uma série de características do animal, como cor da pelagem, formato do corpo e cabeça, irrigação do úbere, tamanho e distribuição das tetas do úbere etc., as quais, ele sabe, são associadas ao desempenho de outros atributos, tais como produção de leite ou carne.

Uma outra situação muito conhecida pelos melhoristas é o emprego de seleção indireta. A seleção indireta é aquela praticada em um determinado caráter para se ter ganho em um outro, associado ao primeiro. Por exemplo, a resistência ao nematoide das galhas *Meloidogyne incognita* em tomateiro é controlada por um alelo dominante **Mi**. A seleção de plantas

resistentes é um processo trabalhoso que envolve o preparo do inóculo, inoculação e avaliação em condições de campo ou casa de vegetação, além de se manifestar nas raízes, necessitando que a planta seja removida do solo para ter o seu sistema radicular avaliado. Contudo, sabe-se que o alelo **Mi** está ligado ao loco da enzima fosfatase ácida. Assim, é possível selecionar indivíduos que apresentam atividade para essa enzima com a intenção de obter plantas resistentes ao nematoide, sem haver necessidade das inoculações e do arranquio das plantas, que muitas vezes resulta em sua morte.

Mais recentemente, a seleção indireta tem sido realizada empregando-se marcadores moleculares associados a outros caracteres de interesse agrônômico ou econômico. O emprego dessa técnica é discutido no Capítulo 18.

### PROBLEMAS PROPOSTOS

1. No tomateiro, a altura da planta é decorrente de um gene com dominância do alelo **D**, que condiciona planta alta em relação ao **d** para planta anã. A presença de pilosidade no fruto depende do alelo recessivo **p**, enquanto o alelo **P** condiciona frutos lisos. Foi realizado um cruzamento teste e obtido o seguinte resultado: anã e lisa 5; anã e pilosa 118; alta e pilosa 5; alta e lisa 161.
  - a) Qual a frequência esperada de cada fenótipo, no cruzamento teste, se os genes apresentassem distribuição independente?
  - b) De acordo com a sua resposta no item **a**, qual a sua explicação para os resultados obtidos?
  
2. Utilizando os dados do problema 1:
  - a) Esquematize as situações que ocorreram no diplóteno, metáfase I e telófase II, dos meiócitos do indivíduo da geração  $F_1$ .
  - b) Considerando 100 meiócitos, qual o número de células em que foi observada cada uma dessas situações?
  
3. No caupi, o alelo **I**, dominante, é responsável pela resistência ao vírus da mancha anelar e está ligado ao alelo **C**, também dominante, que confere resistência ao vírus do mosaico. O cruzamento de uma planta resistente às duas doenças com outra suscetível produziu a seguinte descendência:  
440 plantas resistentes aos dois vírus;  
plantas suscetíveis aos dois vírus;  
plantas resistentes apenas ao vírus da mancha anelar;  
145 plantas resistentes apenas ao vírus do mosaico.
  - a) Qual a distância entre os genes?
  - b) Indique os genótipos dos genitores e dos descendentes do cruzamento.
  - c) Qual a fase de ligação dos genes, no genitor resistente?
  
4. Em soja, o alelo dominante **R** confere nodulação normal e seu alelo recessivo **r** restringe a nodulação. O alelo **F**, também dominante, é responsável por caule cilíndrico e seu alelo **f**, por caule fasciado. O cruzamento entre a cultivar Clark e a T 248 produziu os resultados seguintes:

Gerações	FENÓTIPOS			
	Nódulação normal Caule cilíndrico	Nódulação normal Caule fasciado	Nódulação reduzido Caule cilíndrico	Nodulação reduzido Caule fasciado
P <sub>1</sub>	40	-	-	-
P <sub>2</sub>	-	-	-	20
F <sub>1</sub>	25	-	-	-
F <sub>2</sub>	784	212	212	119
RC <sub>1</sub>	250	-	-	-
RC <sub>2</sub>	102	68	72	108

- a) Forneça a interpretação genética desses resultados.  
 b) Determine a fase de ligação dos genes.  
 c) Determine a distância entre os genes.
5. A cor do aquênio em alface é controlada por um gene com dominância do alelo que condiciona aquênio preto (**W**) sobre o branco (**w**). Por seu turno, a ocorrência de folhas com os bordos ondulados é condicionada por um alelo recessivo (**fr**) e o alelo dominante condiciona folha lisa (**Fr**). Considerando que esses dois genes estão situados no mesmo cromossomo a 34 cM, pergunta-se:

a) Qual a proporção fenotípica esperada na geração F<sub>2</sub> do seguinte cruzamento?

P <sub>1</sub>	X	P <sub>2</sub>
Aquênios pretos e folhas onduladas		Aquênios brancos e folhas lisas

- b) Se fosse realizado o cruzamento teste, qual seria a proporção esperada?
6. Pericarpo vermelho no milho é decorrente do alelo dominante **P**, enquanto pericarpo incolor é condicionado pelo alelo recessivo **p**. Sementes no pendão são decorrentes do alelo recessivo **ts<sub>2</sub>**, enquanto pendão normal depende do alelo **Ts<sub>2</sub>**. Os resultados obtidos nos cruzamentos testes, envolvendo duas plantas heterozigóticas foram os seguintes:

Fenótipos	Descendentes	
	Planta 1	Planta 2
Pericarpo vermelho - semente pendão	15	580
Pericarpo incolor - pendão normal	14	610
Pericarpo incolor - semente pendão	1.174	8
Pericarpo vermelho - pendão normal	1.219	9

- a) Quais os genótipos das plantas 1 e 2?
- b) Qual a frequência de recombinação entre esses genes?
- c) Se as plantas 1 e 2 forem cruzadas, qual a frequência esperada de plantas com pericarpo incolor e sementes no pendão?

7. Uma linhagem de melão, homocigótica para três alelos recessivos, **q**, **c**, **f** que condicionam, respectivamente, polpa verde, casca verde e fruto liso, foi cruzada com outra linhagem homocigótica para os alelos dominantes. A  $F_1$  foi retrocruzada com a linhagem recessiva dando os seguintes resultados:

Descendentes	
Fenótipos	Número
Polpa verde, casca verde, fruto liso	422
Polpa salmão, casca amarela, fruto rendilhado	418
Polpa verde, casca amarela, fruto liso	424
Polpa salmão, casca verde, fruto rendilhado	416

- a) Esses genes estão ligados ou distribuem-se independentemente? Explique.
- b) Caso estiverem ligados, estimar a frequência de recombinação.

8. No cromossomo 1 do algodoeiro, ocorrem os genes que afetam o comprimento e o tipo de folha **L** e **Cu** a 16 cM de distância. O alelo **L** confere folha estreita e **l** folha larga. O alelo **Cu** condiciona folhas normais e **cu** folhas onduladas. O gene para a reação ao *Fusarium* encontra-se no cromossomo 2, sendo o alelo dominante **W** responsável pela resistência.

- a) Qual o resultado esperado do cruzamento teste sendo a fase de ligação de repulsão?
- b) Qual a proporção esperada de plantas com folhas largas e onduladas e suscetíveis ao *Fusarium*, provenientes da autofecundação da planta heterocigótica utilizada no cruzamento teste?

9. No estágio de plântula, uma planta de milho homocigótica para todos os alelos recessivos apresenta fenótipo folhas brilhantes, virescentes e sem lígula. Essa planta foi cruzada com outra heterocigótica para as três características produzindo a seguinte proporção de descendentes:

Fenótipos	Número de descendentes
Folhas sem brilho, verde, com lígula	28
Folhas sem brilho, verde, sem lígula	179
Folhas sem brilho, virescente, com lígula	69
Folhas sem brilho, virescente, sem lígula	250
Folhas brilhantes, verde, com lígula	198
Folhas brilhantes, verde, sem lígula	70
Folhas brilhantes, virescente, com lígula	183
Folhas brilhantes, virescente, sem lígula	23
TOTAL	1.000

a) Determinar a ordem dos genes e construir o mapa genético envolvendo esses três locos.

(Obs.: Folhas brilhantes = **gl**, virescente = **v**, sem lígula = **lg**).

b) Calcular o coeficiente de interferência e interpretar o resultado.

c) Qual o genótipo da planta heterozigótica usada no cruzamento teste?

10. No cromossomo 5 do milho, estão localizados os seguintes genes e respectivas frequências de recombinação:

lu - gl - 5	gl - ps - 5	lu - ps - 10
lu - vp <sub>2</sub> - 9	gl - bv - 13	vp <sub>2</sub> - bv - 9
ps - bm - 2	bv - ps - 8	bm - bv - 6

a) Construa o mapa genético, mostrando a posição desses 6 genes.

b) Quais as distâncias entre os genes **lu - bm**; **lu - bv**; **gl - vp<sub>2</sub>**; **gl - bm**; **vp<sub>2</sub> - ps**; **vp<sub>2</sub> - bm**?

11. Em tomate, os seguintes genes estão localizados no cromossomo 2, como mostra o mapa:

m	d	p
17	21,5	26

Em que:

m - folhas manchadas

d - planta anã

p - fruto piloso

a) A partir do cruzamento  $\frac{MDP}{MDP} \times \frac{mdp}{mdp}$ , qual a proporção em F<sub>2</sub> de indivíduos puros e de fenótipo:

Genética na Agropecuária

1. Folhas verdes, planta alta e fruto liso;
2. Folhas verdes, planta anã e fruto liso.

b) Quais seriam suas respostas para o item **a**, se o  $F_1$  apresentasse constituição  $\frac{mDP}{Mdp}$ ?

12. Howes e Lachman, 1974 (*The Journal of Heredity*, 65:313-4), verificaram que os alelos recessivos **id**, **a** e **h** que condicionam os fenótipos flores indeiscentes, plantas sem antocianina e sem pelos, respectivamente, estão situados no cromossomo 11 do tomateiro, conforme o seguinte mapa genético:

h	a	id
37	57	74,4

- a) Esquematize um cruzamento teste envolvendo os três genes em fase de atração.
- b) Considerando que 1.000 indivíduos foram obtidos nesse cruzamento teste, qual o número esperado de cada fenótipo? ( $I=0,2$ )

13. No cromossomo 3 do milho, ocorrem três genes, conforme o seguinte mapa genético:

$Cr_1$	$d_1$	a
0	18	111

a) Quais as proporções genotípicas esperadas a partir do cruzamento  $\frac{Cr_1d_1a}{cr_1D_1A} \times \frac{cr_1d_1a}{cr_1d_1a}$ ?

b) Qual o tamanho da descendência do item **a** para se obter 50 descendentes do genótipo  $Cr_1 D_1 A/cr_1 d_1 a$  com 95% de probabilidade?

14. Uma cultivar de caupi, resistente ao *Fusarium* e aos nematóides que causam galha, foi cruzada com outra cultivar suscetível tanto ao *Fusarium* quanto aos nematoides. Todas as plantas  $F_1$  mostraram-se resistentes aos dois organismos e o retrocruzamento da  $F_1$  com a cultivar suscetível produziu 128 plantas resistentes aos dois organismos e 132 suscetíveis aos dois organismos.

- a) Formule uma hipótese para explicar a herança desses caracteres.
- b) Sugira um procedimento para testar essa hipótese.

# 10 EFEITOS DO AMBIENTE NA EXPRESSÃO GÊNICA

## 10.1 INTRODUÇÃO

Na maioria dos exemplos já apresentados, foi considerado que o genótipo é o único responsável pela produção de um dado fenótipo, independentemente da condição ambiental em que o organismo se encontra. No entanto, para a maioria dos caracteres, a expressão fenotípica é dependente também do ambiente.

A participação do genótipo na expressão do fenótipo é evidenciada em muitas situações, como, por exemplo, quando semeia-se uma semente de feijão e outra de milho num mesmo solo e em condições ambientais semelhantes, tem-se uma planta de feijão e uma de milho, cada uma com as características típicas de cada espécie. Isso ocorre apesar de que, para a formação das duas plantas, foram utilizados e transformados aparentemente os mesmos recursos do ambiente, ou seja, nutrientes do solo, água, CO<sub>2</sub> e luz. A transformação dessas substâncias em duas plantas completamente distintas é possível graças às informações genéticas específicas, presentes nas células da semente de cada espécie.

Por outro lado, a influência dos fatores ambientais também altera o fenótipo, como pode ser notado quando semeiam-se duas sementes oriundas da autofecundação de uma planta homocigótica de feijão, sendo uma em solo fértil e a outra na areia. As duas plantas resultantes serão bastante diferentes em diversas características, embora ambas sejam geneticamente idênticas.

Assim, pelo exposto, nota-se que indivíduos geneticamente diferentes desenvolvem-se de modo diferente no mesmo ambiente, mas também indivíduos geneticamente idênticos desenvolvem-se desigualmente em ambientes diferentes. Na realidade, o que ocorre na expressão de qualquer caráter é uma ação conjunta do genótipo e do ambiente, isto é:

$$\text{Fenótipo (F)} = \text{Genótipo (G)} + \text{Ambiente (A)}$$

## 10.2 EFEITOS DO AMBIENTE NA MANIFESTAÇÃO FENOTÍPICA

Em seguida, serão comentados alguns exemplos onde se verificam alterações marcantes nos fenótipos decorrentes da influência de fatores do ambiente, tais como temperatura, nutrição, luz e hormônios.

### 10.2.1 Efeitos da Temperatura

Um exemplo clássico é o efeito da temperatura na cor da pelagem dos coelhos. O genótipo  $c^h c^h$  produz o tipo denominado himalaia e que lembra os animais com pelos pigmentados (marrom ou preto) apenas nas extremidades do animal, isto é, no focinho, nas patas, na cauda e nas orelhas. Na verdade, este fenótipo dos animais  $c^h c^h$  ocorre quando eles estão expostos a temperaturas que variam entre 15 e 24°C e resulta da ação do alelo  $c^h$ , que é responsável pela produção de um tipo termo-sensível da enzima tirosinase. Essa enzima só catalisa a síntese de pigmentos - melanina - nas regiões do corpo em que a temperatura é inferior a 15°C, como nas extremidades do animal. Coelhos  $c^h c^h$  expostos a temperaturas abaixo de 2°C tornam-se pigmentados em todo o corpo. Por outro lado, em temperaturas acima de 29°C, o alelo  $c^h$  não é ativo e todo o corpo do animal é branco. Veja que o animal normalmente, só possui as extremidades de cor preta. Contudo, se o pelo for raspado e colocado uma bolsa de gelo, por algum tempo, o novo pelo será preto (Figura 10.1).

Outro exemplo que salienta o efeito da temperatura na determinação do fenótipo é o que ocorre em *Primula sinensis*, em que algumas variedades produzem flores vermelhas somente quando cultivadas em temperaturas inferiores a 30°C e flores brancas em temperaturas superiores. Já, as variedades de flores brancas, apresentam essa cor em qualquer temperatura.

Nesses exemplos, verifica-se que determinados fenótipos podem ser produzidos tanto por fatores genéticos quanto ambientais.

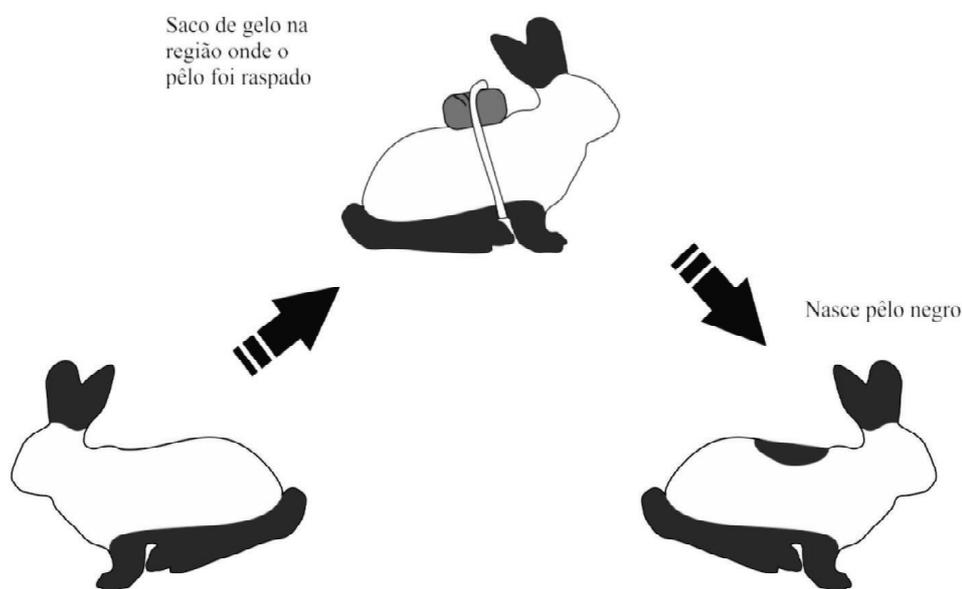


FIGURA 10.1. Efeito da temperatura na cor da pelagem dos coelhos himalaia.

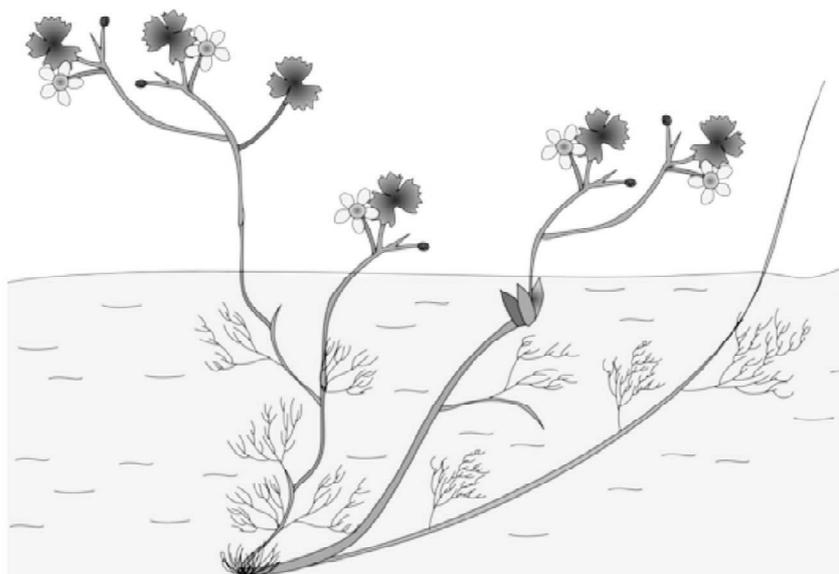
### 10.2.2 Efeitos da Luz

Um exemplo típico do efeito da luz sobre o fenótipo corresponde à produção de clorofila nas plantas, que é determinada por genes que só se expressam em presença de luz. Quando uma planta cresce na ausência de luz, ela fica albina. O fenótipo induzido por fatores ambientais e semelhante a outro determinado geneticamente é denominado **fenocópia**.

O fenótipo albino produzido por deficiência de luz é uma **fenocópia** do mutante albino, o qual não produz clorofila por uma causa genética.

Em suínos e aves, a síntese de vitamina D também é regulada pela exposição direta dos animais à luz solar. Animais que são criados em galpões cobertos devem receber suplementação dessa vitamina, pois, embora possuam a informação genética para sua síntese, falta condição ambiental favorável para sua expressão.

É importante ressaltar que a variação fenotípica decorrentes das alterações do ambiente é comumente adaptativa. Um exemplo interessante é o que ocorre em certas espécies de *Ranunculus*. Essas plantas vivem na água e estão sujeitas a grandes variações, principalmente na forma da folha. Elas produzem folhas filamentosas quando submersas e folhas inteiriças quando estão na superfície da água (Figura 10.2). Essas formas podem ser alteradas de acordo com o nível da água. O significado adaptativo dessa mudança na morfologia da folha está em se manter um equilíbrio ótimo entre os dois fatores mais necessários à fotossíntese: luz e água. Para a folha submersa apenas a luz é um fator limitante. Em consequência, quanto maior a superfície da folha em relação a seu volume, maior é a proporção de células e



**FIGURA 10.2.** Planta aquática (*Ranunculus aquatilis*) mostrando a grande diferença entre o formato das folhas flutuantes e das submersas.

cloroplastos que estão diretamente expostos à luz relativamente fraca que penetra na água. Por outro lado, a folha não submersa recebe bastante luz, mas pode perder água por meio da transpiração. A folha, sendo relativamente compacta, tem a vantagem de reduzir essa perda de água.

### 10.2.3 Efeitos da Nutrição

Em coelhos, a gordura dos animais pode ser amarela ou branca. Essa diferença é atribuída a um gene, sendo o alelo recessivo **a** responsável pela gordura amarela. O alelo dominante **A** produz uma enzima específica, que atua sobre a xantofila, que é amarela e é encontrada nas partes verdes das plantas transformando-a, em uma substância incolor. Nos indivíduos **aa**, não havendo produção da enzima, a xantofila encontrada nos alimentos verdes é armazenada no tecido gorduroso. O interessante, contudo, que evidencia o efeito do ambiente é que se a alimentação dos animais **aa** for realizada com alimentos não verdes a gordura será branca, como nos animais **A\_**. O fenótipo gordura branca, nos animais **aa**, é um outro exemplo de fenocópia dos animais portadores do alelo dominante **A**.

Em plantas, também ocorre alteração na expressão fenotípica, em razão do fator nutricional. Assim, por exemplo, com deficiência de nitrogênio no solo as plantas ficam amareladas, embora possuam informação genética para manifestar a cor verde normal.

### 10.2.4 Efeitos Hormonais

No milho, ocorrem vários tipos de plantas anãs, sendo cada tipo decorrente de um controle monogênico. Alguns mutantes anões, entre eles o braquítico - decorrente do alelo **br<sub>2</sub>** -, respondem ao tratamento com o hormônio giberelina, produzindo um crescimento normal. Também a enxertia sobre platinhas normais contribui para o crescimento do enxerto anão, até atingir o porte normal, indicando uma difusão do regulador de crescimento, provavelmente giberelina, do normal para o anão. As diferentes mutações para anão correspondem, portanto, ao bloqueio na formação da giberelina, que deve ser o produto final de uma via metabólica. Porém, como são conhecidos vários mutantes para anão e como eles reagem diferentemente ao tratamento com giberelina, é provável que os vários genes controlem diferentes passos na síntese da giberelina e de hormônios relacionados. No milho, quando se obtém uma planta de altura normal, a partir do tratamento com giberelina de uma plantinha com constituição genética para anão, tem-se também fenocópia da planta de altura normal, determinada geneticamente.

Há vários outros exemplos de efeitos hormonais, sendo que um dos mais expressivos é aquele que afeta a reversão sexual em peixes, mais especificamente em Tilápia, em que os alevinos tratados com hormônios alteram a proporção sexual. Em plantas de pepino, a proporção sexual também pode ser alterada por efeitos hormonais. As auxinas, por exemplo,

contribuem com o maior aparecimento de flores femininas e o contrário ocorre com a giberelina.

### 10.3 PENETRÂNCIA E EXPRESSIVIDADE

A **penetrância** é definida como a porcentagem de indivíduos de uma população com um dado genótipo, que expressa o fenótipo correspondente. A penetrância de um genótipo pode ser completa ou incompleta. Penetrância completa é quando um genótipo produz o fenótipo correspondente sempre que estiver presente em condições de se expressar. Já, a penetrância é incompleta quando apenas uma parcela dos indivíduos com o mesmo genótipo expressa o fenótipo correspondente.

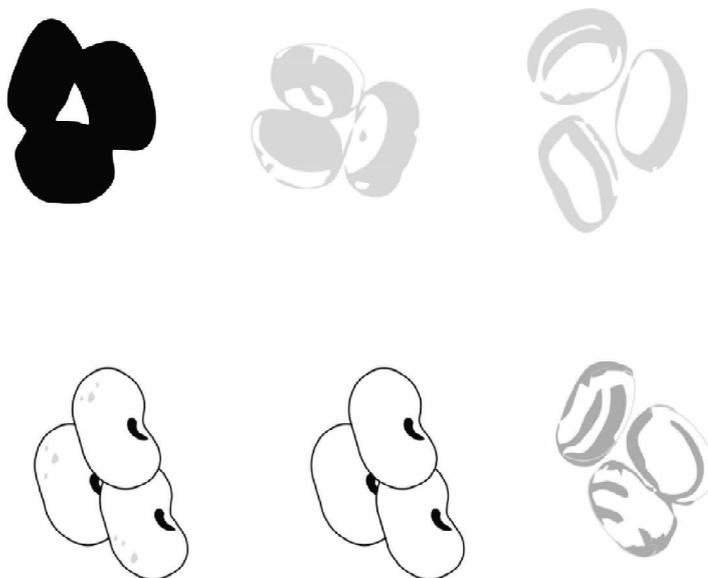
A **expressividade** corresponde ao modo de expressão do genótipo, que pode ser uniforme ou variável. Expressividade uniforme ocorre quando um genótipo expressa sempre um único tipo de fenótipo, de fácil reconhecimento. Porém, quando a expressão do genótipo resulta no aparecimento de vários padrões de fenótipos ou vários graus de expressão, tem-se uma expressividade variável. Esse caso constitui uma dificuldade para o geneticista e melhorista, pois, à primeira vista, parece tratar-se de caracteres com controle genético mais complexo, quando na verdade trata-se de um caráter em que um genótipo apresenta expressões variadas.

Um exemplo de penetrância incompleta e expressividade variável ocorre na cultivar de feijão Carioca. Nessa cultivar existe um alelo dominante **L**, responsável pela presença de listras marrons na semente, que tem uma coloração creme-claro. Observa-se que cerca de 5% das sementes da cultivar não apresentam listras, embora todas sejam homozigóticas para o alelo **L**. Assim, a penetrância da classe genotípica **L\_** é de 95%. A Tabela 10.1 ilustra as proporções genotípicas em populações obtidas pelo cruzamento das cultivares Carioca e Mulatinho.

**TABELA 10.1.** Proporções fenotípicas nas gerações  $F_1$  e  $F_2$  obtidas a partir do cruzamento das cultivares de feijão Carioca e Mulatinho.

Genitores:	Carioca	x	Mulatinho
Genótipos:	LL		ll
Fenótipos:	Com listras		Sem listras
$F_1$ : Genótipo:		Ll	
Fenótipos:		95% com listras : 5% sem listras	
$F_2$ : Genótipos:	25% LL	50 L l	25% ll
Fenótipos:			
Com listras:	23,75%	47,50%	0
Sem listras:	1,25%	2,50%	25,00%

Observe que a penetrância incompleta do genótipo **Ll** determina segregação fenotípica na geração  $F_1$  e a segregação fenotípica na  $F_2$  fica alterada para 71,25% com listras e 28,75% sem listras. O padrão de listras conferido pelo alelo **L** é também variável, pois existem sementes com apenas traços de marrons, até aquelas quase inteiramente marrons (Figura 10.3). Portanto, genótipos com alelo **L** apresentam penetrância incompleta e expressividade variável.

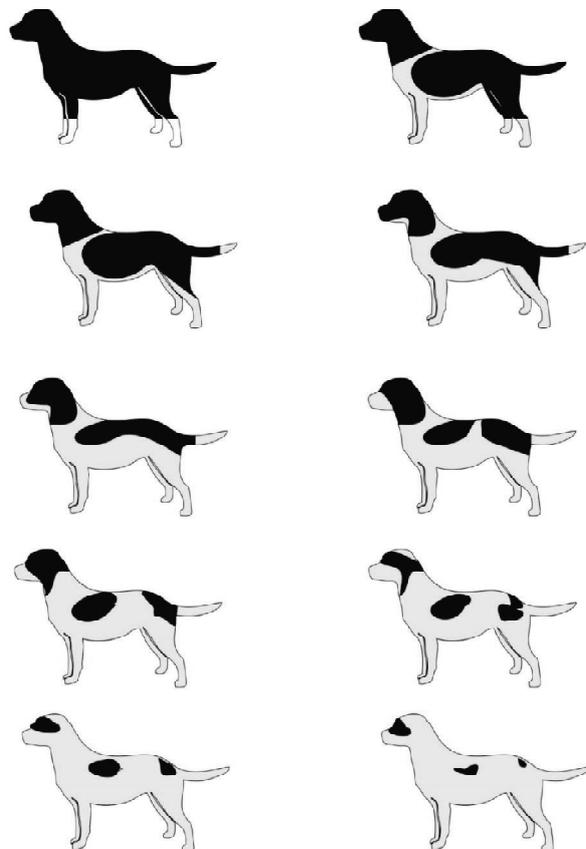


**FIGURA 10.3.** Penetrância incompleta e expressividade variável de genótipos com o alelo **L** responsável pela presença de listras marrons na semente do feijoeiro.

Os fenômenos de penetrância e expressividade são também muito comuns entre os animais. Na Figura 10.4, é mostrado um caso de expressividade variável com relação a ocorrência de manchas na pelagem de algumas raças de cães.

Os termos penetrância e expressividade são utilizados quando não se conhecem todos os fatores que afetam a expressão de um determinado genótipo. Tais fatores podem ser tanto ambientais como genéticos. Porém, sempre quando um genótipo apresenta penetrância incompleta e/ou expressividade variável, a relação gene-caráter fica mascarada pela alteração da correspondência entre o genótipo e o fenótipo.

#### Efeito do Ambiente na Expressão Gênica



**FIGURA 10.4.** Exemplo de expressividade na cor da pelagem de cães. Todos esses cães possuem o mesmo alelo ( $S^P$ ) responsável pelas manchas na pelagem, veja contudo, a grande diferença na expressão fenotípica dos animais.

### 10.4 INTERAÇÃO GENÓTIPOS X AMBIENTES

Até agora foi enfatizado que o fenótipo é o resultado do genótipo + ambiente. Na realidade, existe quase sempre um terceiro componente, que é a interação genótipos por ambientes - GA-; assim, tem-se:

$$F = G + A + GA$$

A interação genótipos por ambientes é um fenômeno amplamente disseminado entre as plantas e os animais, e inúmeros exemplos são conhecidos. Ela é o principal complicador do trabalho dos melhoristas, exigindo que o melhoramento seja conduzido nas condições em que o genótipo será utilizado. A interação dos genótipos x ambientes é caracterizada quando o comportamento das raças, linhagens ou cultivares não são consistentes nos diferentes ambientes, isto é, a resposta de cada genótipo é específica e diferente de outros genótipos às alterações que ocorrem nos ambientes.

Uma boa situação para ilustrar a interação é a resistência de plantas a um determinado patógeno que possui inúmeras raças. Seja, por exemplo, o caso da resistência do feijoeiro ao *Colletotrichum lindemuthianum*, agente causal da antracnose. Esse é um patógeno responsável por perdas expressivas na produção de grãos dessa leguminosa. Em trabalho realizado na Universidade Federal de Lavras, três linhagens de feijão foram inoculadas com três raças desse patógeno, sendo obtidos os resultados apresentados na Tabela 10.2.

Compare o comportamento das linhagens Carioca MG e CI 140. Observe que houve uma inversão de comportamento. A linhagem Carioca MG foi resistente à raça 89 e suscetível à raça 81 do patógeno e com a CI 140 ocorreu exatamente o contrário. Considerando as raças do patógeno como um efeito ambiental, tem-se a situação clara da interação dos genótipos x ambientes, como já mencionado, o comportamento das cultivares não foi consistente nos dois ambientes. Essa interação pode ser constatada para outros inúmeros fatores ambientais, tais como fertilidade do solo, umidade, temperatura, fotoperíodo, etc.

**TABELA 10.2.** Reação de linhagens de feijão a duas raças do agente causal da antracnose.

Linhagens	Raças do patógeno		
	81	89	119
Carioca	S*	S	S
Carioca MG	S	R	S
CI-140	R	S	S

\* S: Suscetível R: Resistente

Os dados apresentados na Tabela 10.3 ilustram uma situação em que fenótipo = genótipo + ambiente + interação dos genótipos x ambientes. Foram avaliadas seis cultivares de feijão com constituições genéticas diferentes, como evidenciam as produtividades médias de grãos das cultivares. O efeito ambiental é realçado pela produtividade média obtida em cada localidade. Em condições de temperatura moderada (Popayan), a produtividade média foi superior à das outras duas localidades. A interação genótipos x ambientes está também bem evidenciada. Veja, por exemplo, que nas condições de altas temperaturas as cultivares com melhor desempenho foram P 589 e S 215-N. Essas mesmas cultivares sob condições de baixa temperatura não chegaram a produzir grãos. Por outro lado, as cultivares Diacol Andino e Cargamento, que praticamente não produziram grãos em alta temperatura, foram as mais produtivas em baixas temperaturas.

Para a produção de leite, os animais da raça holandesa apresentam genótipo para maior potencial produtivo. Porém, os animais dessa raça só manifestam esse potencial em boas condições de manejo. Nas propriedades rurais em que o manejo não é favorável, como ocorre em muitas regiões do Brasil, os rebanhos mestiços (híbridos) ou até os de raça

zebuínas, gir leiteiro por exemplo, são os que apresentam maior produção. Na Tabela 10.4, é evidenciado esse fato, considerando várias características para rebanhos que possuem diferentes proporções de alelos da raça holandesa e guzerá. Observe que nas condições de alto manejo a produção de leite e as demais características são melhores nos rebanhos com maior proporção de alelos do holandês. O mesmo não ocorre em condições de baixo manejo.

**TABELA 10.3.** Produtividade de grãos, em t/ha, de cultivares de feijão testados em três localidades com diferentes condições de temperatura, na Colômbia ( International Center for Tropical Agriculture e - CIAT, 1979)

Cultivares	Localidade			Média das Cultivares
	Santa Fé (alta temp.)	Popayan (temp. moderada)	Pasto (baixa temp.)	
P 589	2,23	3,10	0,00	1,78
S 215-N	2,22	2,27	0,00	1,65
Jamaica	1,53	3,27	0,19	1,66
Linea 29	2,10	3,22	0,00	1,77
Diacol Andino	0,02	1,88	1,32	1,07
Cargamanto	0,02	1,83	0,94	0,93
Média dos locais	1,35	2,67	0,41	

**TABELA 10.4.** Resultados médios e desvios padrões para características da primeira lactação de vacas de rebanhos holandês x guzerá com seis proporções diferentes de alelos, obtidos em fazendas de alto e baixo nível de manejo.

Proporção de alelos do rebanho holandês	Características					
	Duração da lactação (dias)		Produção de leite (kg/lactação)		Produção de gordura (kg)	
	Alto <sup>1/</sup>	Baixo	Alto	Baixo	Alto	Baixo
H	400 ± 37 <sup>2/</sup>	154 ± 38	3438 ± 207	772 ± 390	126,6 ± 15,4 <sup>1/</sup>	28,4 ± 15,8
7/8	318 ± 20	289 ± 41	3076 ± 267	1959 ± 418	118,0 ± 8,4	77,8 ± 16,9
3/4	315 ± 26	275 ± 30	3322 ± 267	1717 ± 306	133,5 ± 10,1	68,0 ± 12,4
5/8	203 ± 23	260 ± 33	1622 ± 235	1474 ± 335	53,3 ± 9,5	60,6 ± 13,6
1/2	322 ± 20	307 ± 28	3235 ± 205	2322 ± 287	141,7 ± 8,3	96,1 ± 11,7
1/4	225 ± 21	155 ± 38	1443 ± 218	859 ± 387	60,1 ± 8,9	38,5 ± 15,7

<sup>1/</sup> Nível de manejo; <sup>2/</sup> Desvio da estimativa.

Esses resultados realçam muito bem a interação dos genótipos por ambientes e mostram a necessidade de que nas condições do Brasil, onde há uma diversidade muito grande de ambientes, o rebanho deve ser escolhido em função das condições de manejo predominantes.

### 10.5 ESTIMATIVAS DE CONTRIBUIÇÃO DO EFEITO DOS GENÓTIPOS, AMBIENTES E DA INTERAÇÃO GENÓTIPOS X AMBIENTES

Um dos objetivos da maioria dos programas de melhoramento genético de plantas e animais é estimar quanto da variação fenotípica se deve à interação. Por meio dessas informações, os pesquisadores podem direcionar seus trabalhos visando a atenuar os efeitos da interação ou até mesmo utilizá-la na obtenção de plantas e animais para condições específicas.

Essas estimativas são obtidas por meio de uma análise de variância, sendo necessário que se disponha de uma tabela de dupla entrada, tal como, por exemplo, cultivares de plantas ou raças de animais avaliadas em alguns ambientes. Seja, por exemplo, a avaliação de três cultivares de arroz em três localidades do Estado de Minas Gerais (Tabela 10.5, caso A). Com base nessa tabela, pode-se estimar a soma de quadrados totais ( $SQ_T$ ), a soma de quadrados decorrente de cultivares ( $SQ_C$ ) e a soma de quadrados decorrente dos locais ( $SQ_L$ ). Pela diferença  $SQ_T - SQ_C - SQ_L$ , obtém-se a soma de quadrados da interação cultivares x locais ( $SQ_{CL}$ ). No exemplo tem-se:

$$SQ_T = (2,5)^2 + (3,0)^2 + \dots + (1,0)^2 - \frac{(18)^2}{9} = 3,00$$

$$SQ_C = \frac{(7,5)^2 + (6,0)^2 + (4,5)^2}{3} - \frac{(18)^2}{9} = 1,50$$

$$SQ_L = \frac{(6,0)^2 + (7,5)^2 + (4,5)^2}{3} - \frac{(18)^2}{9} = 1,50$$

$$SQ_{CL} = SQ_T - SQ_C - SQ_L = 0,00$$

Como se observa nessa situação a interação foi nula, isto é, o comportamento das cultivares de arroz foi consistente nos três locais. Na Figura 10.5a, são mostrados graficamente os resultados obtidos. Novamente, é fácil ver que o comportamento das cultivares é consistente. Só não ocorreu interação porque as três retas foram paralelas.

Vejamos, agora, os resultados obtidos em outros três locais, envolvendo as mesmas três cultivares, Tabela 10.5 (caso B). Nesse exemplo, tem-se as seguintes somas de quadrados:

$$SQ_T = 2,5022$$

$$SQ_C = 0,7356$$

$$SQ_L = 1,6689$$

$$SQ_{CL} = SQ_T - SQ_C - SQ_L = 0,0977$$

Nesse caso, há interação. Veja no gráfico, Figura 10.5b, que as três retas não são paralelas. É visível, entretanto, nesse caso que a interação não mudou a classificação das cultivares em função do local. A “Guarani” foi a melhor cultivar em todos os três locais. Nessa situação, a interação é denominada de simples.

Seja novamente a avaliação das três cultivares em outros três locais, Tabela 10.5(caso C) e Figura 10.5c. Nessa situação, tem-se:

$$SQ_T = 1,2422$$

$$SQ_C = 0,1156$$

$$SQ_L = 0,2956$$

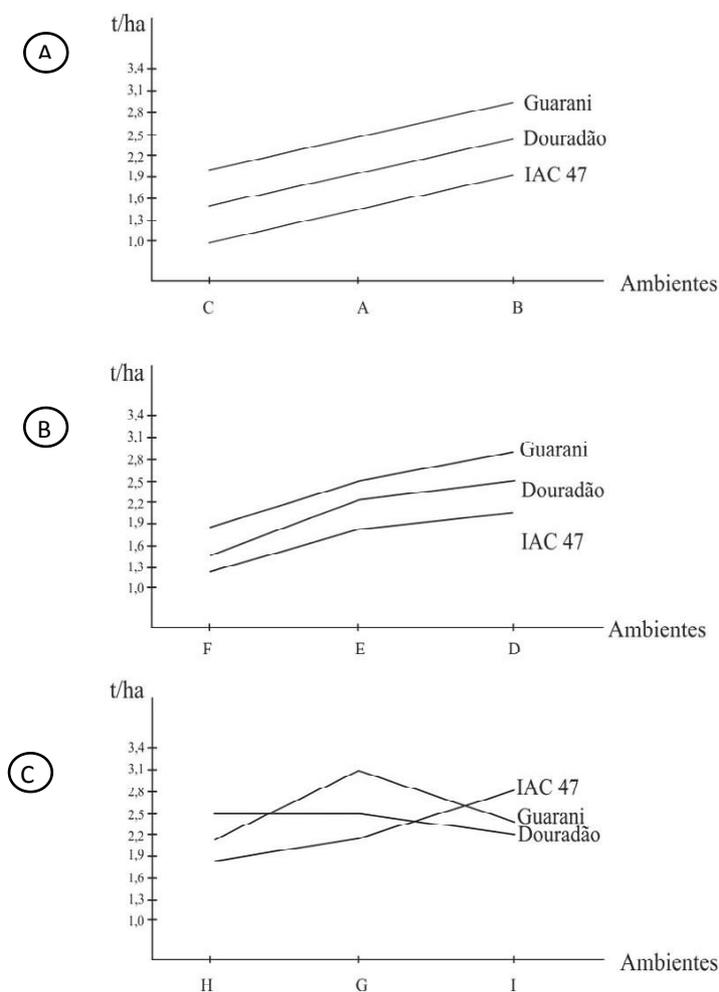
$$SQ_{CL} = 0,8310$$

**TABELA 10.5.** Produtividade de grãos de arroz (t/ha) em algumas localidades do estado de Minas Gerais.

<b>Caso A</b>				
Cultivares	Locais			Totais
	A	B	C	
Guarani	2,5	3,0	2,0	7,5
Douradão	2,0	2,5	1,5	6,0
IAC-47	1,5	2,0	1,0	4,5
Totais	6,0	7,5	4,5	18,0
<b>Caso B</b>				
Cultivares	D	E	F	Totais
Guarani	3,0	2,5	1,7	7,2
Douradão	2,5	2,2	1,4	6,1
IAC-47	2,0	1,8	1,3	5,1
Totais	7,5	6,5	4,4	18,4
<b>Caso C</b>				
Cultivares	G	H	I	Totais
Guarani	3,0	2,0	2,4	7,4
Douradão	2,5	2,5	2,2	7,2
IAC-47	2,0	1,8	2,8	6,6
Totais	7,5	6,3	7,4	21,2

A interação foi mais expressiva que as fontes de variação, locais e cultivares. Observe que houve uma inversão na classificação das cultivares de acordo com o local. Essa é uma interação complexa e tem efeitos expressivos dificultando o trabalho dos melhoristas. Existem, contudo, procedimentos que não serão comentados aqui, que possibilitam atenuar os efeitos desse tipo de interação.

De tudo o que foi mostrado, ficou evidente que tanto o genótipo como o ambiente têm um papel decisivo na manifestação fenotípica. De nada vale um genótipo superior quando o ambiente é desfavorável, como também não adianta muito melhorar o ambiente se o genótipo não é o adequado. Enfim, os resultados mostram a necessidade de conduzir os programas de melhoramento ou adquirir animais matrizes nas condições mais próximas possíveis que os descendentes encontrarão para o seu crescimento e desenvolvimento.



**FIGURA 10.5.** Produtividade de grãos (t/ha) de cultivares de arroz avaliadas em diferentes localidades. A) - sem interação; B) - interação simples; C) - interação complexa.

**PROBLEMAS PROPOSTOS**

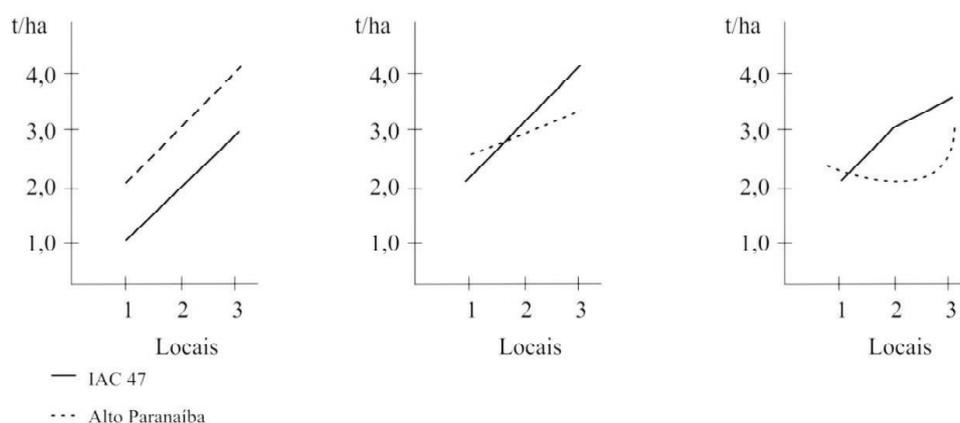
1. No coelho himalaia, os animais são brancos com as extremidades escuras decorrentes da presença de melanina no pelo. Se for retirado o pelo branco do dorso do animal, por exemplo, e esse animal for colocado em um local com temperatura baixa, o novo pelo que irá crescer na região depilada será escuro como nas extremidades do corpo. Sugira uma explicação para esse fenômeno.
2. Quando se corta a grama e se amontoa o material cortado em um determinado local desse gramado, por algum tempo nota-se que sob o material cortado a grama que se desenvolve é albina.
  - a) Como pode ser explicado esse fato?
  - b) Se for encontrado nesse mesmo gramado algumas plantas albinas, mesmo expostas ao solo, qual é a explicação para esse fato?
  - c) Como se denominam as plantas albinas por ausência de luz?
3. Os resultados médios obtidos em kg/ha para cinco cultivares de feijão, avaliados em quatro localidades do Estado de Minas Gerais, no período de 1985/86, foram os seguintes:

Cultivares	Locais				Média
	Caldas	Ponte Nova	Machado	Governador Valadares	
ESAL 502	1.825	2.193	169	1.729	1.479
ESAL 505	2.329	1.807	281	2.086	1.626
ESAL 506	2.216	1.709	449	2.188	1.640
ESAL 508	2.199	1.575	429	1.704	1.477
Carioca	1.774	1.675	347	1.948	1.436
Média	2.069	1.792	335	1.931	1.532

- a) Quais resultados indicam a existência do efeito do ambiente na expressão do genótipo para a produção de grãos?
- b) Quais resultados indicam a existência do efeito do genótipo?
- c) Esses resultados indicam a existência de interação cultivares x locais? Justifique sua resposta.
- d) Qual a importância para os melhoristas de feijão da avaliação de cultivares em mais de um local?

Genética na Agropecuária

- Utilizando os dados do problema 3, sugira valores para a produtividade média das cultivares em Machado, de modo que não ocorra interação genótipos x ambientes, com a localidade de Caldas. Considere que não há alteração das médias de produção dessas duas localidades.
- Nos gráficos, são representadas as produtividades de grãos em t/ha, de duas cultivares de arroz - Alto Paranaíba e IAC 47 -, cultivados em três localidades:



Interprete os três gráficos considerando a ocorrência ou não de interação cultivares x locais.

- Em um experimento conduzido na UFLA em 1981/82, foram avaliados algumas cultivares de feijão em consórcio com o milho e em monocultivo. As produtividades médias de grãos, em kg/ha, de oito cultivares nos dois sistemas de plantio foram as seguintes

Cultivares	Sistema de plantio		
	Monocultivo (M)	Consórcio (C)	C/M %
Venezuela 63	1.413	502	35,5
Moruna	828	322	38,9
ESAL 1	958	374	39,0
Carioca	831	292	35,1
Roxo PV	807	601	74,5
Linea a	1.584	671	42,4
Pintado	630	515	81,7
IPA	1.300	950	73,1
Média	1044	528	

- a) Esses resultados indicam a existência de interação cultivares x sistemas de cultivo?  
 b) Qual a implicação prática desses resultados?

7. As produtividades médias de grãos de café beneficiado em kg/ha, de três progênes obtidas durante 6 anos, em Campinas, São Paulo, foram as seguintes:

Progênes	Ano da colheita						Média
	1	2	3	4	5	6	
C 848	229,6	879,2	841,1	1.535,2	1.688,8	2.887,5	1.343,7
C 376-1	706,4	818,3	1.158,1	1.152,7	1.983,8	2.134,4	1.325,7
MP 376-4	589,8	897,2	1.195,8	2.936,9	1.935,7	5.080,1	2.105,8

- a) Ocorreu interação progênes x anos? Justifique sua resposta.  
 b) Como pode ser interpretado esse resultado, em termos de recomendação para os cafeicultores?
8. Quando se estudou a herança do vírus do mosaico da ervilha, verificou-se que ela é monogênica, sendo a resistência decorrente do alelo recessivo. No entanto, nesses estudos, sempre era verificado um número de plantas suscetíveis menor do que o esperado na  $F_2$ .
- a) Qual seria a explicação para esse resultado na  $F_2$ ?  
 b) Posteriormente, foi verificado que, se a  $F_2$  fosse inoculada e mantida numa temperatura de  $18^\circ\text{C}$  ou menos, a resistência mostrava-se controlada por um alelo dominante. Porém, se a  $F_2$  fosse mantida à temperatura de  $27^\circ\text{C}$ , a resistência era controlada pelo alelo recessivo. Quais suas conclusões sobre esses fatos? Qual sua nova conclusão sobre o item a)?
9. A cultivar de feijão pintado apresenta grãos de cor creme com manchas vermelhas. No entanto, as sementes apresentam normalmente uma certa variação no padrão de manchas e até mesmo a sua ausência. Essa variação na expressão fenotípica, às vezes, é responsável pela eliminação do lote de semente, com o argumento de que se trata de uma mistura varietal. Como proceder para verificar se o caso considerado foi decorrente da penetrância incompleta e expressividade variável ou uma mistura de genótipos?
10. Em alguns animais, a suscetibilidade a determinados patógenos é geneticamente controlada. Contudo, frequentemente animais com o mesmo genótipo manifestam diferentes graduações do sintoma da doença. Como pode ser explicado esse fato?

11. A seguir são apresentados os resultados obtidos da produção de leite (kg/lactação) de alguns rebanhos de bovinos avaliados em três propriedades do Sul de Minas Gerais.

Rebanho	Propriedades		
	A	B	C
Holandês puro (H)	6000	4000	3000
Gir leiteiro (G)	3000	2800	2700
1/2 G x 1/2 H	5000	3800	3600
3/4 H + 1/4 G	5500	3500	3200

- a) Considerando o fenótipo, produção de leite, quais são as causas de variação que ocorreram?
- b) Quais as implicações desse resultado para os pecuaristas?
12. Na V&M Florestal, algumas espécies de *Eucalyptus* foram avaliadas em três locais no estado de Minas Gerais. Os resultados médios do volume de madeira (m<sup>3</sup>/ha) aos 6 anos de idade, foram os seguintes:

Espécies	Locais		
	Paraopeba	Curvelo	Bocaiuva
<i>E. grandis</i>	40	22	12
<i>E. camaldulensis</i>	60	52	28
<i>E. citriodora</i>	45	35	18
<i>E. cloeziana</i>	55	45	30

- a) Quais foram os fatores que contribuíram para a variação na expressão fenotípica (volume de madeira)?
- b) Quais as implicações desse resultado para a empresa florestal?
13. Em bovinos de raça Charolês, foi verificado que a artrogripose, doença que afeta a circulação dos animais, é controlada por um alelo recessivo que apresenta penetrância incompleta e expressividade variável, o que isso significa?

# 11 HERANÇA E SEXO

## 11.1 INTRODUÇÃO

Em princípio a função biológica fundamental do sexo é a reprodução. Contudo, sabe-se que esta pode ocorrer por meios assexuais em um grande número de plantas e animais inferiores. O sexo, no entanto, tem uma segunda função biológica que é a de promover a segregação e recombinação dos genes. A reprodução sexual é, sem dúvida, um dos responsáveis pela evolução, pela enorme variabilidade genética gerada nas espécies e viabiliza o melhoramento genético. Parte dessa variabilidade está relacionada a diferenciação sexual e ao controle genético de alguns caracteres cujos fenótipos dependem da expressão sexual. Dada a importância desses fenômenos para a genética, neste capítulo iremos discutir alguns aspectos de como se dá a determinação do sexo, bem como o controle genético de alguns caracteres cujos fenótipos dependem da expressão sexual.

## 11.2 DETERMINAÇÃO DO SEXO PELAS CONDIÇÕES AMBIENTAIS

Existem vários exemplos na literatura que mostram a grande influência do ambiente na determinação do sexo. Um dos exemplos mais notáveis observados entre as plantas foi apresentado pelo professor Hamilton Bicalho (ESALQ/USP). Em seu trabalho, ele demonstrou que plantas da espécie de orquídea *Catasetum fimbriatum* podem apresentar, algumas vezes, flores do sexo masculino e/ou do sexo feminino, dependendo da condição ambiental em que ela se encontra. Por exemplo, se as plantas forem colocadas em pleno sol produzirão flores femininas e, no caso das plantas estarem sombreadas, dentro de um estaleiro, as flores produzidas serão masculinas.

Um outro exemplo ocorre em pteridófito do gênero *Equisetum*, vulgarmente conhecida como cauda-de-cavalo. Nessa espécie, a produção de flores femininas ocorre em condições de alta fertilidade, enquanto flores masculinas se desenvolvem em plantas cultivadas em solos pobres.

Em vários animais, especialmente répteis e anfíbios, a determinação do sexo se dá por influência da temperatura durante o desenvolvimento embrionário (Período de incubação). Exemplos interessantes ocorrem em répteis. Em jacarés, crocodilos e lagartos, por exemplo,

quando são submetidos a alta temperatura nascem machos e sob baixa, nascem fêmeas. Em geral, a temperatura intermediária promove as proporções mais semelhantes de machos e fêmeas. Em temperaturas mais extremas pode ocorrer também a produção de outros tipos como o hermafrodita. Na verdade, o principal agente responsável pela expressão sexual são os hormônios sexuais, sendo os androgênios responsáveis pelo sexo masculino e os estrogênios pelo feminino. O efeito da temperatura, na realidade, consiste em alterar a atuação fisiológica desses hormônios.

Em tartarugas, o sexo das ninhadas também é influenciado pela temperatura de incubação dos ovos (MROSOVSKY, 1980). Temperaturas mais altas ocasionam maior proporção de fêmeas, enquanto temperaturas mais baixas resultam em um maior número de machos (MROSOVSKY, 1980; MROSOVSKY; PROVANCHA, 1992). A temperatura determinante para que ocorram 50% de machos e 50% de fêmeas é denominada de pivotal (29 °C). Se a média da temperatura durante o terço médio de incubação for mais elevada que a temperatura pivotal, há a prevalência de nascimento de fêmeas, ao passo que, se a média da temperatura for mais baixa, há prevalência de machos. Em um mesmo ninho, pode haver o nascimento de diferente porcentagem de sexo, como 70% de fêmeas e 30% de machos (HAMANN et al., 2003).

Em peixes, as características sexuais e o sexo gonadal podem ser modificados pelo tratamento pós-larval com hormônio por um período variável, iniciando na fase larval da maioria das espécies, quando as gônadas ainda estão em fase indiferenciada de organização.

### 11.3 DETERMINAÇÃO GENÉTICA DO SEXO

Um par de cromossomos citologicamente distintos proporciona a base para a determinação do sexo na maioria dos animais superiores e em um número reduzido de plantas. Tais cromossomos são conhecidos como **cromossomos sexuais**, enquanto os demais são denominados de **autossomos**. Existem basicamente três sistemas de determinação do sexo: **XY**, **XO** e **ZW**.

#### 11.3.1 Sistema Sexual XY

Sistema predominante entre animais vertebrados e também encontrados em insetos, como a *Drosophila*, e até mesmo em plantas dioicas, como o lúpulo e o cânhamo. As fêmeas são **homogaméticas (XX)**, isto é, produzem gametas de um só tipo com relação aos cromossomos sexuais, sendo os machos **heterogaméticos (XY)**, isto é, seus espermatozoides segregam para o par de cromossomos sexuais. Dessa forma, o macho determina o sexo de sua descendência pela contribuição do cromossomo **X** para metade dos zigotos e do cromossomo **Y** para outra metade (Figura 11.1a).

O que torna o cromossomo Y o determinante do sexo em mamífero é a presença de um gene, chamado SRY. Este codifica um fator de transcrição que faz com que a gônada se

torne um testículo. O testículo produz andrógeno (testosterona) por meio das células de Leydig que são secretadas no corpo e ativam o fator de transcrição receptor de andrógeno, levando a ativação da expressão gênica específica masculina.

Quando iniciaram os estudos da determinação de sexo em *Drosophila* imaginava-se que o mecanismo era similar ao apresentado pelos mamíferos e a espécie humana. Porém, constataram que o sexo é determinado por um balanço entre a relação do número de cromossomos X e o número de conjuntos autossômicos. O cromossomo Y não é essencial para o desenvolvimento do fenótipo macho, embora determine fertilidade. Os genes que determinam a feminilidade estão localizados no cromossomo X e os genes que determinam a masculinidade se distribuem nos autossomos, podendo originar, além de indivíduos normais, vários tipos sexuais como pode ser visto na tabela 11.1.

**TABELA 11.1** Razão entre cromossomos X e autossomos e o tipo sexual correspondente em *Drosophila melanogaster* ( $2n = 8$ ).

Cromossomos X e complemento de autossomos (A)	Razão X/A	Sexo
1X 2A	0,50	Macho
2X 2A	1,00	Fêmea
3X 2A	1,50	Superfêmea
4X 3A	1,33	Superfêmea
4X 4A	1,00	Fêmea tetraplóide
3X 3A	1,00	Fêmea triplóide
3X 4A	0,75	Intersexo
2X 3A	0,67	Intersexo
2X 4A	0,50	Macho tetraplóide
1X 3A	0,33	Supermacho

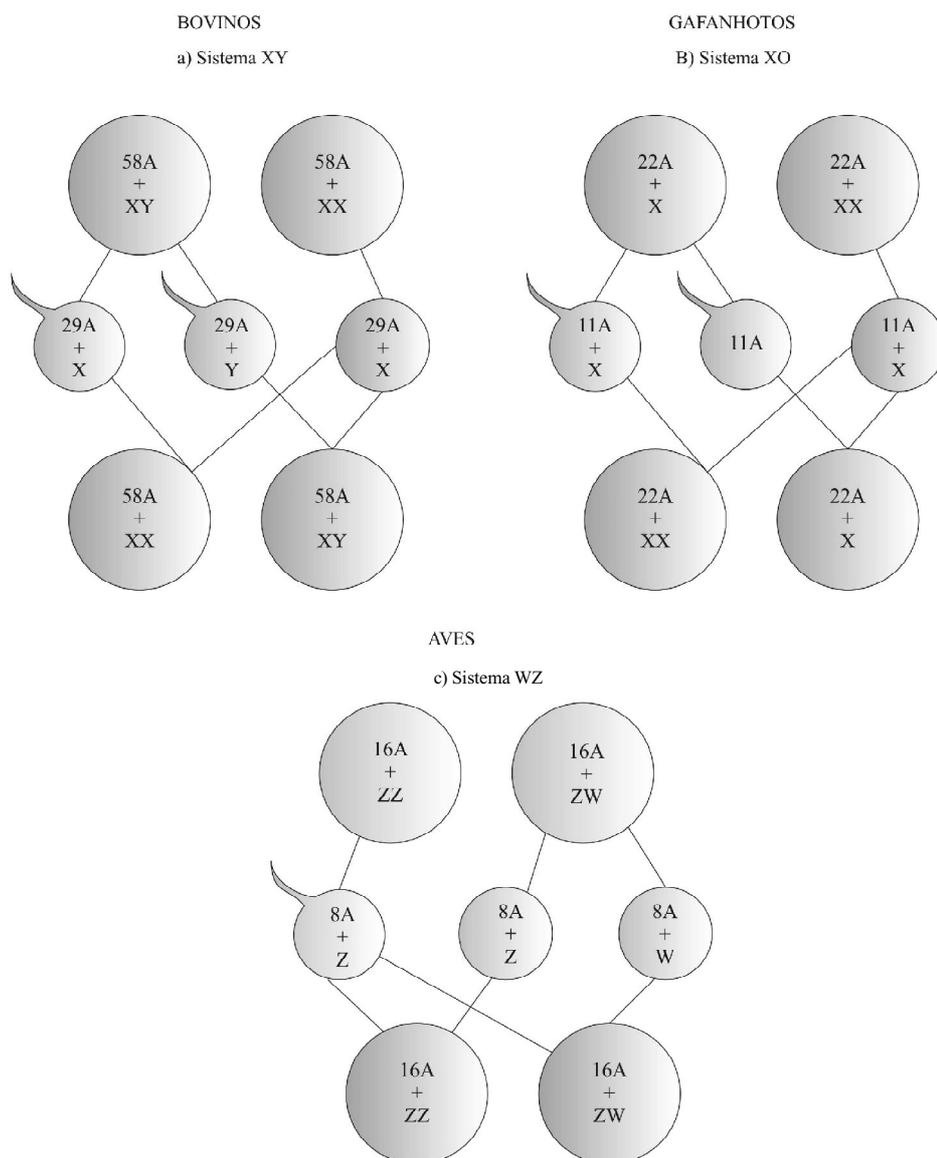
Fonte: Bridges (1925)

### 11.3.2 Sistema Sexual XO

Sistema encontrado em algumas espécies de insetos, pertencentes às ordens hemípteros (perceijos), ortópteros (baratas e gafanhotos) e coleópteros (besouros), além dos nematóides. Nesse caso, o macho apresenta apenas um cromossomo X, possuindo, portanto, número ímpar de cromossomos. Seus espermatozoides, além dos autossomos, contêm um cromossomo sexual ou apenas os autossomos. Sendo assim, o macho é heterogamético, ou seja, é quem determina o sexo de seus descendentes. A fêmea, por sua vez, contém dois cromossomos X, homogamética, e produz apenas um tipo de gameta. O esquema da determinação do sexo, nesse caso, é mostrado na Figura 11.1b.

### 11.3.3 Sistema Sexual ZW

Sistema que ocorre em muitos pássaros, alguns peixes e em insetos da ordem lepidópteros (borboletas, mariposas). Os machos têm dois cromossomos sexuais idênticos (**ZZ**) produzindo, conseqüentemente, um único tipo de gameta. A fêmea é heterogamética e, portanto, quem determina o sexo da descendência (Figura 11.1c).



**FIGURA 11.1.** Sistemas de determinação do sexo em organismos superiores: a) sistema **XY**; b) sistema **XO**; c) sistema **ZW**, em que **X**, **Y**, **Z** e **W** são os cromossomos sexuais e **A** os autossomos.

### 11.4 GENES MASCULINIZANTES E FEMINILIZANTES

Apesar da determinação do sexo ser explicada pelos cromossomos sexuais, entretanto, existem evidências em algumas espécies da presença de genes masculinizantes e feminilizantes localizados nos autossomos. Uma das evidências está baseada no fato de que, em alguns casos, o macho, geneticamente determinado, é influenciado pelos hormônios femininos ou vice-versa. Um caso extremo é citado na literatura em que uma galinha botou inúmeros ovos férteis durante o estágio inicial de sua vida, mas depois, em razão de uma doença nos ovários, deixou de produzir hormônios inibidores dos testículos. Em consequência, eles se desenvolveram, passando a galinha a apresentar caracteres masculinos, terminando sua vida como pai de vários pintinhos.

Um outro caso é o que ocorre em caprinos - *Capra hircus* - determinação sexual do tipo XY. As fêmeas são representadas por 58A + XX e os machos por 58A + XY. Nessa espécie, um gene autossômico **P**, além de controlar a presença ou ausência de chifres, tem efeito masculinizante com penetrância completa nas fêmeas e incompleta nos machos. Assim, um animal mocho pode ser portador dos genótipos **PP** ou **Pp**, enquanto os recessivos **pp** são chifrudos. O homocigoto **PP** causa masculinização de todas as fêmeas, as quais são inférteis, sendo 34% do tipo intersexo e 66% falso macho. Já, aquelas que se reproduzem são mochas heterozigóticas (**Pp**) ou chifrudas (**pp**). Nos bodes, o alelo **P** em homocigose frequentemente causa esterilidade. Os animais chifrudos (**pp**) ou mochos heterozigotos (**Pp**) aparentemente são férteis. A Tabela 11.2 resume os efeitos fenotípicos do gene **P**.

**TABELA 11.2.** Efeitos fenotípicos do gene **P** com relação à presença ou ausência de chifres e à expressão sexual de caprinos.

	PP mochos		Pp mochos	pp chifrudos
Fêmea XX	100% estéreis	} 34% intersexo 66% falso macho	100% férteis	100% férteis
Macho XY	60% estéreis 40% férteis		100% férteis	100% férteis

Fonte: Rodrigues e Espeschit(1987)

Um exemplo que difere dos casos apresentados anteriormente ocorre em peixes do gênero *Sarotherodon* (tilápia). A determinação do sexo na tilápia depende também de um gene autossômico, associado à participação de três cromossomos sexuais (**X**, **W**, **Y**). O cromossomo **Y** atua mais em direção à masculinidade do que o cromossomo **W**. Por outro lado, o cromossomo **X** atua mais em direção à feminilidade do que o cromossomo **W**. Assim, pode-se determinar uma ordem dos cromossomos com relação à masculinidade, ou seja: **Y > W > X**. No caso do gene autossômico, o alelo dominante **A** é masculinizante, enquanto o recessivo é feminilizante.

Considerando simultaneamente os cromossomos sexuais e o gene autossômico, são possíveis 18 constituições genéticas diferentes, as quais se encontram representadas na Tabela 11.3. Os pares de cromossomos **YY** que têm uma forte influência em direção à masculinidade, e **WX** e **XX** que determinam a feminilidade, o sexo do indivíduo é independente do gene autossômico. Entretanto, para os pares **WY**, **XY** e **WW**, a influência do autossomo é crítica na determinação do sexo. A importância do autossomo ainda é realçada pelo fato de que dos seis fenótipos recessivos **aa**, todos são fêmeas, com exceção dos indivíduos portadores do par **YY**.

A partir dos dez genótipos femininos e oito masculinos apresentados na tabela 11.3, são possíveis obter oitenta acasalamentos diferentes. Nesses acasalamentos, a proporção sexual da descendência varia desde 100% machos até 100% fêmeas. O número de acasalamentos, produzindo as diversas proporções sexuais na descendência, está apresentado na tabela 11.4.

O acasalamento envolvendo o macho **AAYY** produz descendência toda do sexo masculino, independente do genótipo da fêmea usada para o acasalamento. Esse macho pode ser obtido somente por inversão sexual induzida por hormônios de indivíduos **AAXY**, os quais são cruzados com machos **AAXY**.

**TABELA 11.3.** Expressão sexual em peixes do gênero *Sarotherodon* (tilápia) em função dos cromossomos sexuais e do gene autossômico.

Cromossomos Sexuais	Genótipos		
	AA	Aa	aa
YY	♂	♂	♂
WY	♂	♂	♀
XY	♂	♂	♀
WW	♂	♀	♀
WX	♀	♀	♀
XX	♀	♀	♀

Fonte: Avtalion e Hammerman (1978)

**TABELA 11.4.** Número de acasalamentos produzindo progênes com proporções variadas de machos e fêmeas.

Número de Acasalamentos	14	11	2	33	1	4	7	8	80
% de descendentes fêmeas	100	75	62,5	50	43,8	37,5	25	0	Total

Sob o ponto de vista da exploração comercial da tilápia, os cruzamentos que produzem descendência de 100% machos são altamente desejados, uma vez que os machos apresentam ganho de peso muito mais rápido do que as fêmeas (Figura 11.2). Observe que, com o

crescimento dos peixes, ocorre uma diferenciação crescente dos pesos dos machos em relação às fêmeas, indicando a vantagem comercial do uso de machos na piscicultura. Em função desse fato, tentativas têm sido realizadas visando à reversão sexual por meio do uso de hormônios masculinizantes. Em trabalho conduzido na Universidade Federal de Lavras, animais no estágio de pós-larvas da espécie *Oreochromis niloticus*, foram tratados com o hormônio mesterolona e se conseguiu até 80% de machos.

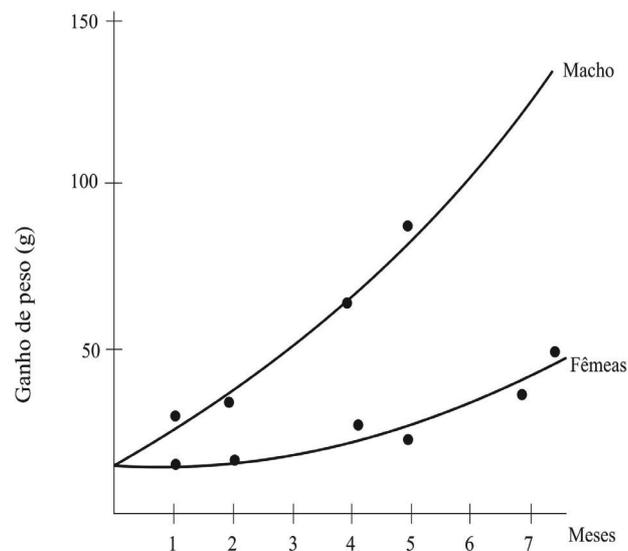


FIGURA 11.2. Ganho de peso (g) de machos e fêmeas de tilápia (BARD, 1978).

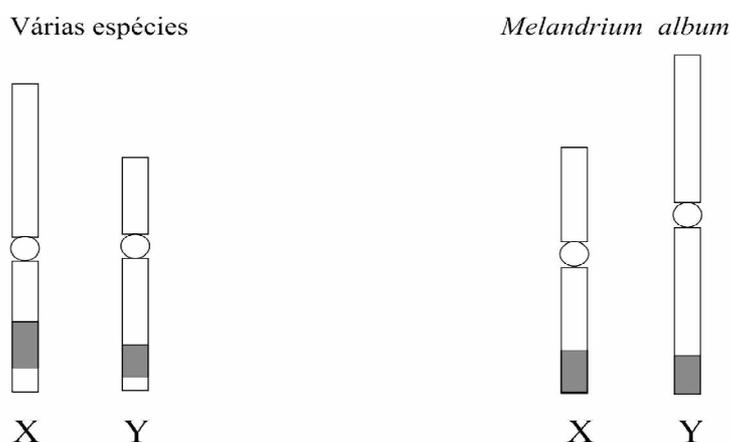
### 11.5 EVOLUÇÃO DOS CROMOSSOMOS SEXUAIS

Sob o ponto de vista evolutivo, os cromossomos sexuais parecem ter se diferenciado mais recentemente porque os répteis, os anfíbios, bem como a maioria dos peixes não possuem cromossomos sexuais ou eles não são morfologicamente distintos. Como sabemos, esses animais estão entre os seres vivos superiores mais antigos. Nessas espécies, a determinação genética do sexo se dá por meio de genes responsáveis pela produção de hormônios sexuais.

Deve ser mencionado que existem regiões homólogas entre os cromossomos sexuais morfologicamente diferentes e os genes lá existentes recombinam-se como os dos autossomos, sendo, então, a herança chamada de **pseudoautosômica**. Porém, em geral, a região homóloga é proporcionalmente menor do que a região não homóloga (Figura 11.3).

A distinção entre os cromossomos sexuais ocorre em razão de uma restrição da recombinação entre eles, isto é, entre os cromossomos X e Y e também entre os cromossomos Z e W. Em consequência, os cromossomos Y e W passam a ter uma participação reduzida na recombinação, isto é, envolvendo somente os genes presentes na região homóloga. Acredita-

se, então, que as mutações vêm acumulando alelos na região não homóloga dos cromossomos **Y** ou **W** e aqueles desfavoráveis seriam letais ao indivíduo, a menos que sejam eliminados por deleção. Com a deleção, vem ocorrendo a redução em tamanho desses cromossomos, os quais passam a concentrar apenas alguns poucos genes responsáveis pela expressão sexual masculina, no caso do **Y**, ou feminina, no caso do **W**. Há casos em que o cromossomo **Y** chega a desaparecer como ocorreu provavelmente com as espécies com a determinação do sexo do tipo **XO**. Embora a maioria das espécies dioicas possua o cromossomo **Y** ou **W** de tamanho menor, há possibilidade de ocorrer o inverso, como é o caso do *Melandrium album*, ilustrado na Figura 11.3. O maior tamanho do cromossomo **Y** deveu-se, nesse caso, provavelmente à translocação de segmentos cromossômicos que contêm genes masculinizantes, aumentando, em consequência, o tamanho do cromossomo **Y**.



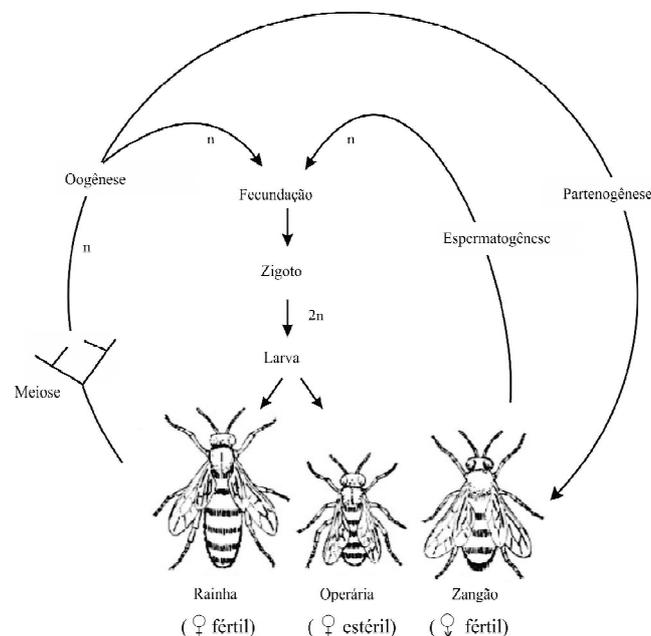
**FIGURA 11.3.** Esquemas de cromossomos sexuais ilustrando as regiões homólogas, em escuro, e as não homólogas, em claro. As espécies que possuem os cromossomos sexuais **Z** e **W** têm este último sempre de menor tamanho.

## 11.6 DETERMINAÇÃO DO SEXO EM ABELHAS

Um outro tipo especial de determinação do sexo é o sistema haplodiploide encontrado em abelhas e outros insetos da ordem *Hymenoptera*.

Estudos revelam a existência do gene *csd* (*complementary sex determiner*) como sinal primário no desenvolvimento sexual de abelhas. O gene possui de onze a dezenove alelos diferentes (MACKENSEN, 1955; LAIDLAW et al., 1956; ADAMS et al., 1977). Indivíduos hemizigotos haploides são machos, indivíduos diploides são fêmeas quando heretozigotos, e machos quando homozigotos. Esse modo de determinação de sexo foi descrito primeiramente em abelhas por Dzierzon (1845) e, somente em 1905, o pesquisador Wilson descobriu o cromossomo sexual.

Uma vez fertilizada, a rainha conserva no receptáculo seminal uma quantidade suficiente de espermatozoides que poderão ser utilizados durante toda a sua vida. Se os ovos forem fertilizados e, portanto, o descendente herdar os dois alelos diferentes do gene *csd*, as proteínas codificadas por eles combinam-se para desencadear o desenvolvimento de uma fêmea diploide. A diferenciação em rainha ou operária irá depender do tipo de alimentação que a larva receberá, se ela for alimentada com geléia real será desenvolvida uma rainha. O sistema falha quando um ovo fertilizado herda duas cópias do mesmo alelo do gene, resultando em um macho diploide, porém, ele não chega à fase adulta uma vez que as operárias os utilizam como alimento ainda em fase larval (BEYE et al., 2003). O zangão haploide será originado de óvulo não fertilizado, fenômeno conhecido como **partenogênese** (Figura 11.4) e terá apenas um alelo *csd*.



**FIGURA 11.4.** Determinação do sexo em abelha. Na espermatogênese, a meiose é anormal, havendo a formação de espermatozoides com o mesmo número de cromossomos da célula somática (Adaptado de PETIT E PRÉVOST, 1973).

## 11.7 GINANDROMORFOS

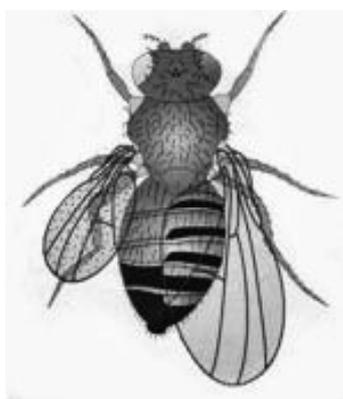
O comportamento cromossômico anormal em alguns animais pode resultar em mosaicos sexuais denominados **ginandromorfos**. Esse fenômeno consiste em o animal apresentar partes com características femininas, e outras partes com características masculinas. Em alguns casos, tanto as genitálias e gônadas masculinas quanto as femininas podem estar presentes no mesmo animal. A frequência natural em algumas moscas tem sido de 1/2000 ou 1/3000.

O grau de ginandromorfismo é variável, podendo ir desde uma bilateralidade sexual, ex. *Drosophila*, isto é, metade do corpo de um sexo e metade do outro, até a existência de apenas alguns traços do sexo oposto (Figura 11.5). Nos casos de bilateralidade sexual, as duas porções são quase sempre separadas longitudinalmente, sendo raríssimo o ginandromorfismo transversal. Os ginandromorfos muitas vezes ocorrem em razão da ação de hormônios sexuais que são reguladores químicos. Estes são produzidos por certas glândulas do corpo e atuam em qualquer parte dele, influenciando o desenvolvimento de tecidos e órgãos.

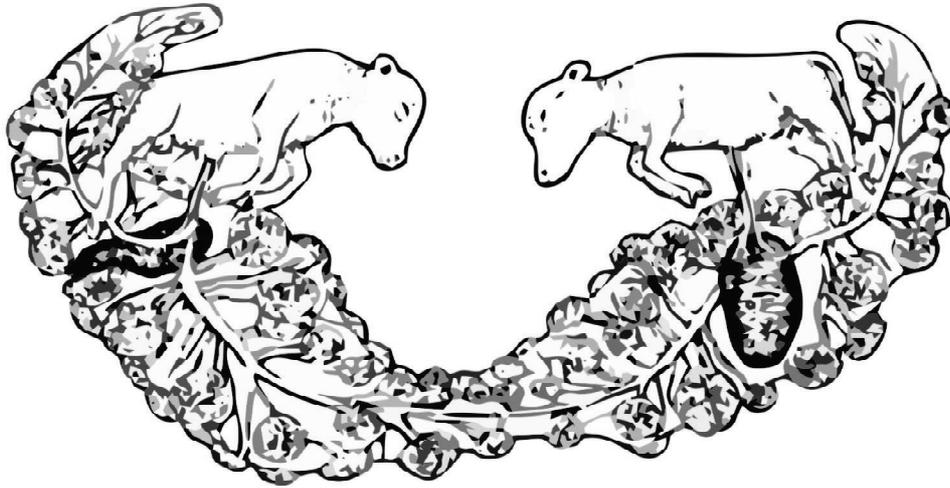
Um caso bem conhecido ocorre normalmente em gêmeos de bovinos. Esses gêmeos, originados de dois ovos separados, podem consistir de dois machos, duas fêmeas ou um macho e uma fêmea. Quando os gêmeos são do mesmo sexo, o desenvolvimento ocorre normalmente. Mas quando um é macho e o outro é fêmea, como o testículo do feto masculino desenvolve-se antes do ovário do feto feminino, os hormônios masculinos passam para o organismo da fêmea, em decorrência da conexão de vasos sanguíneos nas placentas, tornando-se intersexuada, estéril. Tais fêmeas anormais são conhecidas como vacas maninhas ou freemartin (Figura 11.6)

Sempre que ocorrer conexão dos vasos sanguínea dos fetos, as fêmeas oriundas do par de gêmeos serão sempre afetadas, tendo os seus órgãos sexuais modificados na direção masculina. Em alguns poucos casos em que não ocorre conexão dos vasos sanguíneos, as fêmeas desenvolvem-se normalmente. Em outros animais, como carneiros e suínos, os gêmeos nunca são ligados por conexões vasculares, não se encontrando, assim, tais tipos intersexuados.

Em *Drosophila* o ginandromorfo se diferencia de um intersexo quanto à origem e à constituição cromossômica. O ginandromorfo tem origem numa irregularidade mitótica, enquanto que o intersexo é formado por uma combinação gamética que resulta num índice sexual entre 0,5 e 1,0. O ginandromorfo apresenta em um mesmo indivíduo, células com diferentes números de cromossomos. No intersexo o número de cromossomos é constante para todas as células do indivíduo.



**FIGURA 11.5.** Ginandromorfo em *Drosophila*.



**FIGURA 11.6.** Ocorrência de vaca maninha em bovinos (Adaptado de COLIN, 1956).

### 11.8 DETERMINAÇÃO DO SEXO EM PLANTAS

O dimorfismo sexual em plantas superiores é uma característica de menor importância quando comparada com os animais. De fato, a grande maioria das plantas é hermafrodita e, portanto, apresentam os dois sexos em uma mesma flor. Existem, entretanto, outros tipos de expressão sexual, tais como: monóicas - possuem órgãos masculinos e femininos em flores separadas, porém, na mesma planta, e dióicas - possuem órgãos masculinos e femininos em plantas diferentes.

A expressão sexual nas plantas está também sob controle genético. Em algumas espécies, esse controle é realizado por cromossomos sexuais, sendo o sistema **XY** o mais comumente encontrado. Como exemplo, pode-se citar as espécies *Cannabis ruderalis* (cânhamo), *Humulus lupulus* (lúpulo), *Melandrium album*, *Asparagus officinalis* (Aspargo) e *Spinacia oleracea* (espinafre). O morango silvestre (*Fragaria vesca*) segue o sistema **ZW**.

Outro tipo de controle genético mais frequente em plantas é aquele efetuado não por cromossomos sexuais, mas sim por genes sexuais autossômicos. Na realidade, a grande maioria das plantas superiores não apresenta os cromossomos sexuais. Um exemplo do controle da expressão sexual por intermédio de genes autossômicos ocorre em pepino - *Cucumis sativus* L. Nessa planta, o tipo sexual mais comum é o monoico, ocorrendo também os tipos ginoico, andromonóico e hermafrodita. As plantas ginoicas produzem apenas flores femininas, enquanto as andromonoicas possuem flores masculinas e hermafroditas na mesma planta. Essas expressões sexuais são controladas por dois genes F e M, que se interagem da seguinte forma:

**ff MM; ff Mm:** monoica

**FF MM; FF Mm; Ff MM; Ff Mm:** ginoica

**FF mm; Ff mm:** hermafrodita

**ff mm:** andromonoica

Os vários tipos de expressão sexual no pepino permitem a produção de sementes híbridas de uma maneira bastante simples. Para isso, basta que um dos genitores do híbrido seja uma linha ginoica. Nesse caso, toda semente produzida pelas plantas ginoicas são necessariamente híbridas, uma vez que as mesmas devem receber pólen de outras plantas que possuam flores masculinas. Como as plantas ginoicas só possuem flores femininas, sua manutenção é feita pela aplicação de giberelina, a qual induz, temporariamente, a produção de flores masculinas, permitindo, assim, a autofecundação da planta fêmea.

## 11.9 HEREDITARIEDADE EM RELAÇÃO AO SEXO

Neste tópico, objetivou-se estudar o controle genético de caracteres que se expressam de forma particular em algum aspecto nos indivíduos de sexos diferentes. Tais caracteres podem ocorrer em decorrência de genes situados nos cromossomos sexuais, cuja herança é explicada pela passagem dos cromossomos sexuais dos genitores para os filhos e é denominada de **herança ligada ao sexo**. Porém, há também os caracteres controlados por genes situados nos autossomos e que apresentam expressões influenciadas pelo sexo, principalmente os hormônios sexuais. Esses últimos caracteres apresentam dois tipos de controle genético: a **herança influenciada pelo sexo** e a **herança limitada ao sexo**.

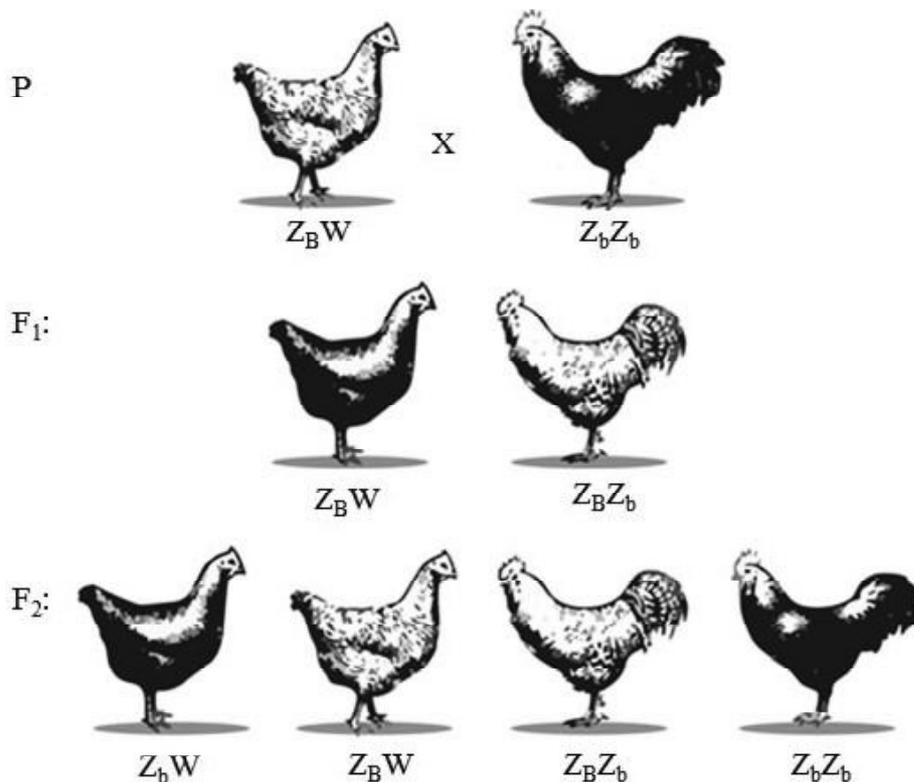
### 11.9.1 Herança Ligada aos Cromossomos Sexuais

Como já foi comentado, é comum a ocorrência de cromossomos sexuais, principalmente nos animais, havendo um sexo homogamético e outro heterogamético. Apesar de serem, esses cromossomos, os principais responsáveis pela determinação do sexo, eles podem possuir também outros genes não diretamente relacionados com o sexo. Dessa forma, é de se esperar que o controle genético dos caracteres, condicionado por genes situados nos cromossomos sexuais, seja algo diferente dos casos estudados anteriormente.

Vejamus um exemplo em galináceas, em que o sexo homogamético - **ZZ** - é o masculino e o heterogamético - **ZW** -, o feminino. Entre os genes situados no cromossomo **Z**, está o responsável pelo caráter barrado - **B** - nas aves carijó. O macho pode ser homocigótico para barrado  $Z_B Z_B$  ou não barrado  $Z_b Z_b$  ou ainda heterocigótico  $Z_B Z_b$ . Já, a fêmea possui apenas um alelo desse gene  $Z_B W$  ou  $Z_b W$  sendo, portanto, denominada **hemizigótica**. Assim,

cruzando-se um macho não barrado com uma fêmea barrada, obtém-se o resultado apresentado na Figura 11.7.

Observa-se que os descendentes do sexo masculino da geração  $F_1$  são barrados e os do sexo feminino, não barrados. Os filhos - sexo masculino - manifestaram o fenótipo herdado da mãe e as filhas, o fenótipo do pai. Houve, assim, uma transposição de fenótipos e, por isso, esse tipo de herança é denominada de **zigue-zague**.



**FIGURA 11.7.** Herança da presença ou ausência de barras nas penas da galinha carijó, em razão de um gene ligado no cromossomo sexual **Z**. Observe na geração  $F_1$  que os descendentes do sexo feminino expressam o fenótipo do pai e os do sexo masculino, o fenótipo da mãe, daí a denominação de herança em zigue-zague.

No caso de um alelo recessivo situado no cromossomo **X**, por exemplo, teremos na população uma maior proporção de machos exibindo o fenótipo, especialmente se o alelo for raro. Isso acontece porque eles são hemizigóticos e o recebem somente das mães homo ou heterozigóticas. Já, o menor número de fêmeas é decorrente do fato de elas terem que receber o alelo dos dois genitores para expressarem o fenótipo recessivo.

Os caracteres ligados ao sexo podem ser usados para separar os sexos - **sexagem** - e são muito úteis aos criadores, especialmente quando eles se expressam precocemente no indivíduo. Como a separação dos sexos é realizada com base nos próprios fenótipos dos indivíduos, emprega-se também o termo **auto-sexagem**. No caso de aves, a vantagem da sexagem precoce é evidente tanto para os animais destinados à postura quanto para o corte. Numa criação de aves para a postura, a manutenção dos machos até o aparecimento do dimorfismo sexual acarreta enorme prejuízo. Igualmente, sabe-se que o ganho de peso dos machos é maior que o das fêmeas. Assim, a separação precoce dos machos destinados ao abate é essencial para a viabilidade da avicultura de corte.

Por isso, várias tentativas de sexagem têm sido feitas. Uma técnica que vem sendo usada é a sexagem de pintos por meio do exame da cloaca. No entanto, é uma operação que demanda tempo, necessita de um técnico especializado e não é completamente eficiente. Uma prática alternativa, que é menos dispendiosa e de grande eficiência, é a autossexagem por meio de caracteres ligados ao sexo e que se expressam na fase jovem do animal. Um exemplo empregado para esse fim é a velocidade de empenamento em pintinhos, que é controlada por um gene situado no cromossomo **Z**, sendo o alelo dominante **K** responsável pelo empenamento lento, e o recessivo **k** responsável pelo empenamento rápido. Os dois fenótipos podem ser diferenciados em pintos com oito a doze dias. A partir do cruzamento de machos com empenamento rápido  $Z_k Z_k$  com fêmeas de empenamento lento  $Z_k W$ , todos os descendentes machos terão empenamento lento -  $Z_k Z_k$  - e todos os descendentes femininos terão empenamento rápido -  $Z_k W$ .

Outro exemplo de autossexagem empregado em nível industrial acontece com o bicho-da-seda (*Bombix mori*) e envolve o cromossomo **W**. Nesse caso, o macho é também o preferido porque ele é superior à fêmea como produtor de seda. Inicialmente, foi descoberto um gene autossômico representado pelos alelos **B**, responsável por ovo preto e **b**, responsável por ovo incolor. Os cientistas japoneses conseguiram transferir o alelo **B** para o cromossomo **W** por meio de translocação. Conseqüentemente, o cruzamento de fêmeas que produzem ovos pretos -  $ZW_b bb$  - com machos do genótipo  $ZZbb$ , produzirá descendentes fêmeas que serão sempre provenientes dos ovos pretos e os machos, dos ovos incolores. Essa autossexagem vem sendo realizada por meio de máquinas de sexagem que reconhecem a cor do ovo.

Outra classe de caracteres ligados ao sexo refere-se ao cromossomo Y que possui alguns genes que lhe são exclusivos, na porção encurvada que não é homóloga ao X. Esses genes, também são conhecidos como **genes holândricos** (do grego *holos*, completamente, e *andros*, masculino), os quais são quase na totalidade relacionados à expressão sexual masculina e somente são passados do pai para o filho. Todo homem afetado é filho de um homem também afetado; todos os seus filhos serão afetados, e as

filhas serão normais. O inverso ocorre com os genes situados na região não homóloga do cromossomo **W**.

Um exemplo interessante relacionado com os cromossomos sexuais é a manifestação da cor da pelagem em algumas raças de gatos. As cores amarela e preta devem-se, respectivamente, aos alelos **E** e **e**, situados no cromossomo **X**, e ocorre também a cor branca, em razão de um controle genético autossômico. No caso da fêmea, ela poderá ser  $X_E X_E$ , ou seja, amarela e branca;  $X_e X_e$ , preta e branca e  $X_E X_e$ , amarela, preta e branca. Já, os machos só podem ser  $X_E Y$ , amarelo e branco e  $X_e Y$ , preto e branco. Dessa forma, explica-se o fato amplamente conhecido pela comunidade de que todos os animais de três cores são sempre fêmeas.

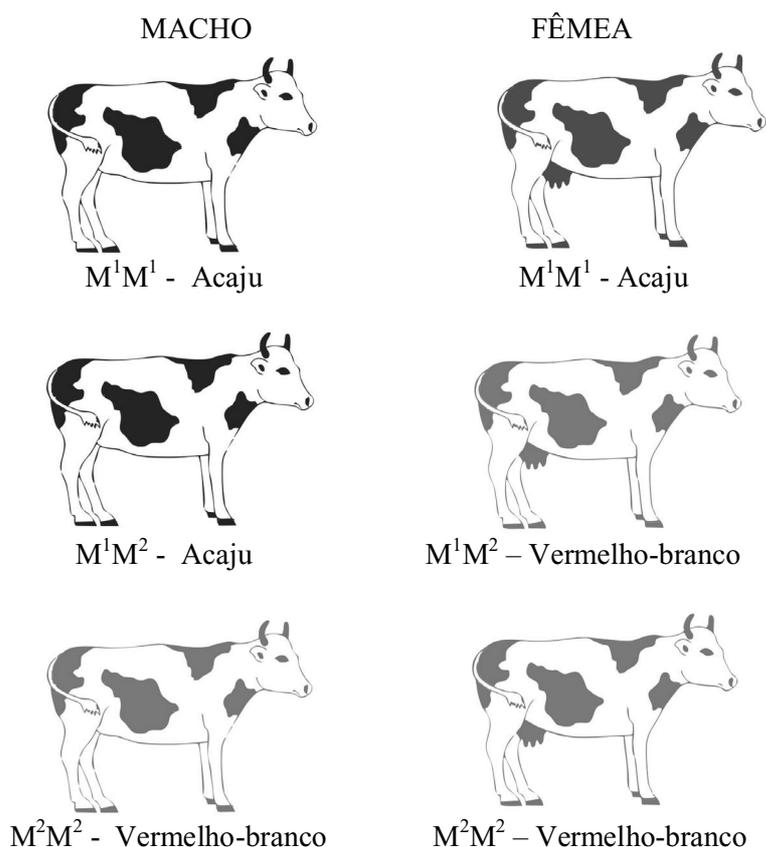
Uma indagação que poderia ainda ser feita com relação às cores desses gatos é como explicar a ampla variação no padrão de cores, isto é, como explicar o fato de que duas fêmeas  $X_E X_e$  tenham as cores amarelo e preto em proporções muito diferentes. Isso pode ser esclarecido, considerando um fenômeno interessante que acontece nos mamíferos, que é a inativação de um dos cromossomos **X**, em todas as células somáticas das fêmeas, a partir de um certo estágio de desenvolvimento do embrião. Portanto, em cada célula somente um cromossomo **X** fica descondensado e funcional, enquanto que o outro fica condensado, constituindo a heterocromatina facultativa, referida no Capítulo 4, e que recebe o nome de cromatina sexual ou corpúsculo de Barr. Por meio de exame citológico, esse corpúsculo é visível no núcleo interfásico, após corado, e permite identificar o sexo determinado biologicamente. Isso acontece porque no momento da condensação de um dos cromossomos **X** em cada célula somática, ela ocorre ao acaso em todo o corpo do embrião, ou seja, pode ser inativado tanto o cromossomo **X** materno quanto o cromossomo **X** paterno. A partir desse momento, as mitoses sucessivas produzem células filhas que tendem a ficar próximas, formando grupos de células que possuem o mesmo cromossomo **X** em atividade ou inativado.

As fêmeas heterozigóticas ( $X_E X_e$ ) são geralmente malhadas, com partes do corpo pretas e partes amarelas. A explicação para esse fato é que, nas regiões pretas, o cromossomo **X** inativado é portador do alelo para cor amarela **E**, enquanto nas regiões amarelas o cromossomo **X** inativado é o portador do alelo para cor preta **e**. A proporção desigual de amarelo e preto de fêmeas  $X_E X_e$  depende do tamanho e do número das áreas da superfície do corpo onde está funcional o cromossomo  $X_E$  ou o  $X_e$ . Em consequência da inativação de um dos cromossomos **X**, outro esclarecimento que também deve ser feito é sobre o tipo de interação entre os alelos **E** e **e**, que à primeira vista parece tratar-se da codominância. Na verdade, não se conhece o tipo de interação entre os alelos, pois eles expressam-se isoladamente e nunca juntos na mesma célula. Como os machos têm somente um cromossomo **X**, eles nunca têm essas duas cores simultaneamente, pois apresentam apenas um ou outro alelo.

### 11.9.2 Herança Influenciada Pelo Sexo

A herança é influenciada pelo sexo quando a expressão de um gene autossômico é afetada pelas condições fisiológicas do sexo na qual se encontra. É no comportamento dos heterozigotos que detectamos essa influência, pois, nos homozigotos, o alelo se manifesta como deveria fazê-lo em qualquer sexo. Mas, no heterozigoto, ele age como dominante num sexo e como recessivo no outro.

Um exemplo interessante a esse respeito é encontrado na raça Ayrshire de bovinos. Nessa raça de gado leiteiro, o animal é branco com manchas vermelhas no pescoço e espáduas, podendo atingir os flancos. Diz-se, então, que ele é vermelho-branco. Às vezes, porém, as malhas são de cor mogno e o animal é dito acaju - branco com mogno. O alelo que determina essa modificação na cor das manchas é simbolizado por  $M^1$ , sendo que seu alelo  $M^2$  determina a cor vermelha. Assim sendo, se o animal for  $M^1M^2$ , ele será acaju, se macho, e vermelho-branca, se fêmea. Os três genótipos possíveis e seus respectivos fenótipos estão apresentados na Figura 11.8.



**FIGURA 11.8.** Constituições genéticas e fenótipos dos dois sexos de bovinos da raça Ayrshire relativos à cor da pelagem.

### 11.9.3 Herança Limitada Pelo Sexo

Encontram-se aqui incluídos todos aqueles casos de caracteres cuja expressão só se manifesta em um dos sexos. De modo análogo à herança influenciada pelo sexo, os caracteres limitados ao sexo são também controlados por genes autossômicos. Um exemplo ocorre em bovinos. Nesses animais, somente a fêmea apresenta produção de leite. Contudo, sabe-se que os touros têm um papel fundamental na determinação da produção de leite de suas crias fêmeas. Isso quer dizer que, apesar de não expressar fenotipicamente o caráter, os touros são portadores de alelos para a produção de leite. Sendo assim, o maior ou menor potencial para produção de leite dos touros é avaliado pelo comportamento de suas crias fêmeas obtidas pelo cruzamento do referido touro com diversas vacas. Outro exemplo de herança limitada pelo sexo e que apresenta importância econômica é a produção de ovos em galinhas.

### PROBLEMAS PROPOSTOS

1. Em suínos, o número diploide de cromossomos é 38. A partir dessa informação, pergunta-se:
  - a) Qual o número de autossomos em um espermatozoide de um cachaço?
  - b) Qual a constituição cromossômica do sexo masculino e feminino?
  - c) Uma porca produziu uma leitegada com 12 leitões. Qual a probabilidade de todos serem do sexo feminino?
2. Qual o animal que tem avô, mas não tem pai? Explique.
3. Setenta e oito cromossomos são encontrados nas células somáticas de uma galinha.
  - a) Qual o número de autossomos e o tipo de cromossomo sexual encontrado nas células somáticas de uma fêmea e de um macho?
  - b) Numa ninhada foram obtidos 14 pintinhos. Qual a probabilidade de pelo menos sete serem do sexo feminino?
4. De uma vaca de excelentes qualidades, há possibilidade de se obter cinco descendentes.
  - a) Qual a probabilidade de todos serem do sexo feminino?
  - b) Se quatro descendentes forem do sexo feminino, qual a probabilidade do último também ser do sexo feminino?
5. Um criador deseja eliminar o seu touro de excelentes qualidades, porque os seus seis primeiros descendentes foram todos do sexo masculino. A decisão do criador está certa ou errada? Justifique sua resposta.
6. Em galinhas, a altura do animal se deve a um gene ligado ao cromossomo **Z**. O alelo dominante **D** confere altura normal e o **d** animal anão. Do cruzamento de um macho normal com uma fêmea anã foram obtidos 10 descendentes. Qual a condição e a probabilidade de que os 10 pintinhos sejam do sexo feminino e anões?
7. Chifres são ausentes na raça de carneiro Suffolk, mas todos os animais são chifrudos na raça Dorset. Quando uma fêmea Suffolk sem chifres é cruzada com machos Dorset chifrudos, as fêmeas  $F_1$  são todas sem chifres, mas os machos são todos chifrudos. Resultados idênticos ocorrem quando uma fêmea Dorset chifruda é cruzada com macho Suffolk sem chifres. Do cruzamento de animais  $F_1$ , é obtida a seguinte descendência: 3/

- 4 das fêmeas sem chifres e 1/4 com chifres; 3/4 dos machos com chifres e 1/4 sem chifres. Qual a sua explicação genética para esses resultados?
8. Nas aves, a cor da pele é um caráter de grande importância, uma vez que interfere na aceitação do produto pelo consumidor. Foi observado que o macho pode apresentar pele preta, intermediária ou amarela, e a fêmea, apenas as cores intermediária ou amarela. Qual a explicação genética para esse caráter?
  9. Foi verificado em gatos que a cor branca da pelagem se deve a um gene autossômico e que as cores amarelas e pretas são decorrentes de dois alelos ligados ao sexo. A partir dessas informações, por que apenas as fêmeas podem apresentar as três cores?
  10. Os pecuaristas sempre se preocupam em selecionar touros, visando a uma maior produção de leite. Como se sabe, apenas as fêmeas produzem leite, dessa forma, qual a razão para esse comportamento dos pecuaristas?



# 12 GENÉTICA QUANTITATIVA

## 12.1 INTRODUÇÃO

Para as características, cuja herança foi examinada nos capítulos anteriores, notamos que as classes fenotípicas eram distintas e facilmente separáveis umas das outras. A semente do milho, por exemplo, é enrugada ou lisa, os bovinos apresentam ou não chifres, podem ter também a pelagem branca, ruão ou vermelha e assim por diante. Características como essas apresentam segregação descontínua e são denominadas qualitativas.

No entanto, nem todas as características apresentam segregação descontínua. A produção de grãos de plantas, em uma população, pode variar amplamente, e, se for feito um estudo de sua segregação, iremos encontrar uma distribuição essencialmente contínua, isto é, entre os tipos mais extremos aparecem inúmeros fenótipos intermediários. Muitas outras características se expressam dessa maneira. Aliás, a maioria das características de interesse econômico, que os geneticistas e melhoristas de plantas e animais normalmente trabalham, apresenta segregação contínua, tais como produção de leite, altura e ciclo vegetativo de plantas, conversão alimentar, produção de ovos.

É notório que, para o estudo dessas características, o procedimento normalmente utilizado em genética qualitativa -proporções fenotípicas- não pode ser empregado. Essas características são estudadas dentro de uma área especializada denominada Genética Quantitativa. O estudo dos caracteres quantitativos utiliza, em muitas situações, a estatística. Isso porque, via de regra, os fenótipos observados - produção de grãos, de leite, altura de plantas. - são obtidos por mensurações, não havendo possibilidade de se identificar classes fenotípicas distintas, como no caso dos caracteres qualitativos. Desse modo, os estudos genéticos são realizados a partir das estimativas das médias, variâncias, coeficientes de regressão e correlação.

## 12.2 HIPÓTESE DOS FATORES MÚLTIPLOS - POLIGENES

Vamos exemplificar o estudo de um caráter quantitativo, utilizando os dados obtidos na Universidade Federal de Lavras, para o peso das sementes do feijão (Tabela 12.1). Neste estudo foram empregadas duas linhagens como genitores: Manteigão Fosco 11 -  $P_1$  - com um peso médio de sementes de 445 mg e Rosinha EEP 125-19 -  $P_2$  - com 179 mg em média.

Observa-se, na Tabela 12.1, que, apesar de estarem sendo utilizadas duas linhagens como genitoras e, portanto, homozigóticas, ocorre variação dentro de cada uma delas. Para a linhagem Manteigão Fosco 11, por exemplo, o peso das sementes varia de 400 a 480 mg. Também entre as plantas da geração  $F_1$ , que apresentam todas a mesma constituição genética, ocorre variação. Essa variação, evidentemente, é de origem ambiental e foi decorrentes de pequenas diferenças nas condições ambientais do campo experimental. Já, a geração  $F_2$  apresenta uma variação muito maior do que a dos pais e da geração  $F_1$ , como pode ser constatada pela amplitude de variação e pela variância -  $\sigma^2$  - obtida para essa geração. Esta maior estimativa da variação é, em parte, decorrente da influência do ambiente - variação ambiental - e também à segregação e recombinação dos genes - variação genética.

A simples inspeção dos dados apresentados na Tabela 12.1 evidencia que o estudo da herança desse caráter deve ser diferente dos anteriormente discutidos (Capítulo 5), como, por exemplo, a herança da textura da semente do milho, que é um caráter tipicamente qualitativo. Em razão das particularidades da herança de um caráter quantitativo, muitos pesquisadores no início do século acreditavam que esses tipos de características não eram controlados por genes mendelianos. Contudo, a partir de 1910, Nilsson-Ehle e East, independentemente, propuseram a “hipótese dos fatores múltiplos” para explicar a herança dos caracteres que apresentam distribuição contínua.

A hipótese dos fatores múltiplos é fundamentada no fato de que uma característica é influenciada por um grande número de genes, cada qual contribuindo com um pequeno efeito para o fenótipo. Assim, para entendermos o controle genético de um caráter quantitativo, suponhamos, hipoteticamente, no nosso exemplo, que não exista influência do ambiente. Os dois genitores utilizados diferem em 266 mg (445-179). Inicialmente vamos considerar que a característica seja controlada por um único gene com 2 alelos ( $A^1$  e  $A^2$ ), sem dominância e aditivo, isto é, o efeito de um alelo se soma ao efeito do outro alelo para formar o fenótipo. Desse modo, na geração  $F_2$  são possíveis 3 genótipos:  $A^1A^1$ ,  $A^1A^2$  e  $A^2A^2$ . Nessa situação, é fácil visualizar que a contribuição de cada **alelo efetivo**, isto é, o alelo que contribui favoravelmente para o fenótipo é de  $266/2 = 133$  mg e corresponde à superioridade do alelo efetivo ( $A^1$ ) em relação ao alelo não efetivo ( $A^2$ ). Assim, os três genótipos corresponderiam aos fenótipos 445 mg, 312 mg e 179 mg, respectivamente. Se considerarmos 2 genes em vez de um, já são possíveis 5 fenótipos diferentes na  $F_2$ , e a contribuição de cada alelo efetivo passa a ser de 66,5 mg ( $266/4 = 66,5$ ).

Na realidade, pode-se demonstrar que com o aumento do número de genes a segregação fenotípica da  $F_2$  obedece ao desenvolvimento do binômio  $(a + b)^m$ , em que  $m$  representa o número de alelos segregantes, e  $a$  e  $b$  os alelos efetivos e não efetivos, respectivamente.

**TABELA 12.1.** Distribuição de frequência, médias e variâncias ( $\sigma^2$ ), para o peso médio de sementes do feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.) das linhagens Manteigão Fosco 11(P<sub>1</sub>) e Rosinha EEP 125-19 (P<sub>2</sub>) e das gerações F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, RC<sub>1</sub> e RC<sub>2</sub>, adaptada de Reis et al. (1981).

Classe Peso médio (mg)	Gerações					
	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	RC <sub>1</sub>	RC <sub>2</sub>
14		1				
15						1
16		1		1		
17		5		2		4
18		13		3		5
19		7		3		4
20		1		5		2
21				2		7
22				14		10
23			1	13		8
24				21	1	6
25			2	14		4
26			2	14	1	1
27			5	9	2	
28			10	11		1
29			4	12	3	1
30			4	13	4	
31			2	5		
32				7	3	
33				5	2	
34				2	1	
35				6	3	
36				2	4	
37				2	1	
38				1		
39				2	1	
40	1				1	
41	1				3	
42	1					
43	7					
44	8				1	
45	2					
46	2					
47	2					
48	5					
Total	29	28	30	169	31	54
Média	445,00	179,00	279,00	266,00	335,00	216,00
$\sigma^2$	482,76	132,80	323,68	2220,98	2401,00	831,76

Para o caso de um gene com dois alelos, temos:  $m=2$  e o binômio será  $(a + b)^2 = a^2 + 2ab + b^2$ . Tomando **a** representativo do alelo **A<sup>1</sup>** e **b** do alelo **A<sup>2</sup>**, teremos  $1A^1A^1 + 2A^1A^2 + 1A^2A^2$  ou  $1/4 A^1A^1 + 1/2 A^1A^2 + 1/4 A^2A^2$ , que é a segregação típica de herança monogênica.

Generalizando, para **m** alelos a expansão do binômio é fornecida por:

$$(a + b)^m = \sum_{i=0}^m C_m^i a^i b^{m-i}$$

em que, **i** equivale ao número de alelos efetivos em cada classe genotípica.

Sejam, por exemplo, 2 locos (**A** e **B**), cada um com 2 alelos efetivos, **A<sup>1</sup>** e **B<sup>1</sup>**, e **A<sup>2</sup>** e **B<sup>2</sup>** não efetivos. Nesse caso,  $m=4$ , e o desenvolvimento do binômio fornece:

$$\begin{aligned} (a+b)^4 &= C_4^4 a^4 b^0 + C_4^3 a^3 b^1 + C_4^2 a^2 b^2 + C_4^1 a^1 b^3 + C_4^0 a^0 b^4 \\ &= a^4 + 4a^3b^1 + 6a^2b^2 + 4a^1b^3 + b^4 \end{aligned}$$

Essa expansão representa uma segregação 1:4:6:4:1 na geração  $F_2$ , ou seja, 1 em 16 indivíduos deverá ter só alelos efetivos, o termo  $a^4$  corresponde ao genótipo com 4 alelos efetivos **A<sup>1</sup>A<sup>1</sup>B<sup>1</sup>B<sup>1</sup>**, que ocorrem com a frequência de 1/16. O termo  $4a^3b^1$  indica que são esperados 4/16 de genótipos contendo 3 alelos do tipo **a** (efetivos) e um do tipo **b** (não efetivo), ou seja, 2/16 dos genótipos serão **A<sup>1</sup>A<sup>2</sup>B<sup>1</sup>B<sup>1</sup>** e 2/16 serão **A<sup>1</sup>A<sup>1</sup>B<sup>1</sup>B<sup>2</sup>** e assim por diante. O fenótipo produzido pelo genótipo **A<sup>1</sup>A<sup>1</sup>B<sup>1</sup>B<sup>1</sup>** –  $a^4$  é evidentemente, o máximo e equivale a 445,0 mg. Para a classe  $a^3b^1$  houve a substituição de um alelo efetivo por outro não efetivo. Assim, o fenótipo dessa classe será reduzido por um valor equivalente à contribuição do alelo efetivo, isto é,  $445,0 \text{ mg} - 66,5 \text{ mg} = 378,5 \text{ mg}$ . Adotando-se esse procedimento obtêm-se os fenótipos para as demais classes da geração  $F_2$ . Na Tabela 12.2, apresentam-se as frequências fenotípicas esperadas em  $F_2$  para as diferentes classes e os respectivos fenótipos.

**TABELA 12.2.** Número de alelos efetivos e não efetivos das diferentes classes fenotípicas da geração  $F_2$  e os respectivos fenótipos.

Frequência fenotípica	Número de alelos		Fenótipos(mg)
	Efetivos	Não efetivos	
1/16	4	0	445,0
4/16	3	1	378,5
6/16	2	2	312,0
4/16	1	3	245,5
1/16	0	4	179,0

Com 3 genes,  $m$  é igual a 6 e são possíveis 7 fenótipos na proporção de 1:6:15:20:15:6:1, e a contribuição de cada efetivo passa a ser de 44,33 mg ( $266/6 = 44,33$ ). Na Tabela 12.3, é apresentado o valor da contribuição de cada alelo efetivo e também o número de fenótipos possíveis com o incremento do número de genes envolvidos. Podemos notar que, à medida que aumentamos o número de genes, há um incremento no número de classes fenotípicas, diminuindo a diferença entre elas. Isso faz com que a segregação na  $F_2$  tenda para uma distribuição contínua, como pode ser constatado na Figura 12.1.

Na Tabela 12.3, é possível observar também que, com o aumento do número de genes, diminui a contribuição de cada alelo efetivo para o caráter. É exatamente nesses dois fatores, grande número de classes fenotípicas e pequena contribuição de cada alelo efetivo, que se baseia a hipótese dos fatores múltiplos.

**TABELA 12.3.** Contribuição de cada alelo efetivo e número de fenótipos existentes na geração  $F_2$ , com diferentes números de genes controlando o caráter peso de sementes do feijão.

Número de genes	Número de alelos totais	Número de fenótipos	Contribuição de cada alelo efetivo* (mg)
1	2	3	133,00
2	4	5	66,50
3	6	7	44,30
4	8	9	33,25
5	10	11	26,60
10	20	21	13,60
100	200	201	1,33
⋮	⋮	⋮	⋮
$n$	$m = 2n$	$2n + 1$	$266/m$

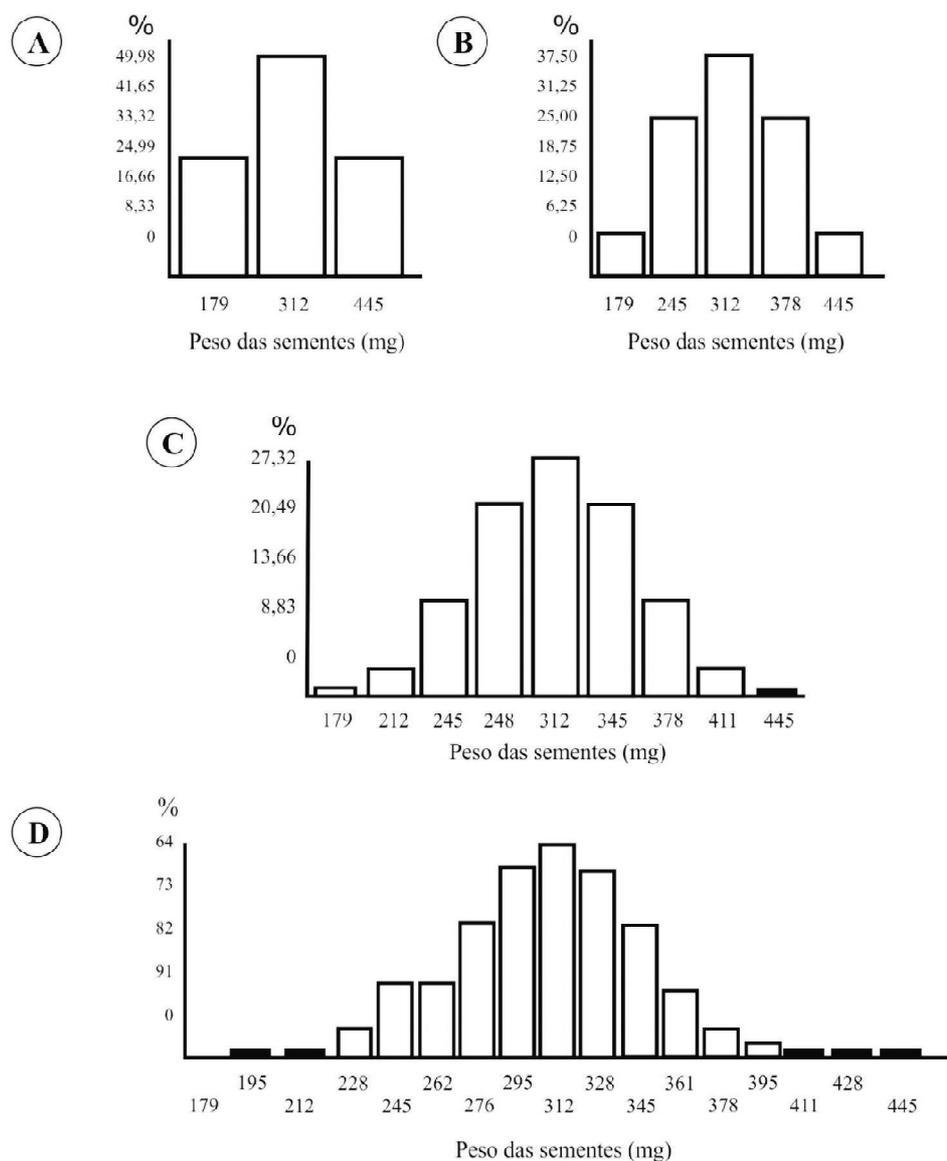
\* Considerando hipoteticamente ausência do efeito ambiental e a diferença entre os genitores de 266 mg.

A grande maioria dos genes envolvidos no controle de caracteres quantitativos não pode ter os seus efeitos isolados e, portanto, não se enquadra na definição de genes ou fatores. Por essa razão, foi proposta a substituição do termo fatores múltiplos por **poligenes**. Cada gene que controla um caráter quantitativo possui pequeno efeito e pode suplementar outros produzindo efeitos quantitativos que podem ser mensuráveis.

Resta ainda salientar que, além do grande número de genes envolvidos, um outro fator que dificulta o estudo dos caracteres quantitativos é o efeito acentuado do ambiente. Como vimos na Figura 12.1, quando um caráter é controlado por um gene com dois alelos, são produzidos três fenótipos distintos na geração  $F_2$ . Se, contudo, o ambiente estiver influenciando a expressão do caráter, fenótipos adicionais aparecerão. Quando o efeito do ambiente é muito pronunciado e mesmo estando presente apenas um gene, a segregação da  $F_2$  pode, até

mesmo, tender para uma distribuição contínua, o que, evidentemente, irá complicar o trabalho do geneticista que estiver envolvido em estudar este caráter.

Em resumo, podemos dizer que a dificuldade do estudo dos caracteres quantitativos reside em dois fatos: o grande número de genes envolvidos e o pronunciado efeito do ambiente. Isso faz com que geneticistas e melhoristas tenham de trabalhar, via de regra, com populações grandes e utilizar parâmetros estatísticos para estudar este tipo de caráter.



**FIGURA 12.1.** Distribuição de frequência para o caráter peso das sementes do feijoeiro, considerando ausência de efeito ambiental e diferentes números de genes de efeito aditivo: A) um gene; B) dois genes; C) quatro genes; D) oito genes.

**BOX 12.1. PRIMEIRO TRABALHO DE ESTUDO DE CONTROLE GENÉTICO DE CARÁTER QUANTITATIVO**

Um dos primeiros trabalhos, para explicar o controle genético de um caráter quantitativo, foi realizado por um geneticista em 1915, o Dr. EAST. Ele trabalhou com o caráter comprimento da corola da flor de *Nicotiana longiflora*, ele possuía dois genitores que diferiam muito no comprimento da corola. A corola do  $P_1$  tinha 93,4mm de comprimento e do  $P_2$  40,60mm. A distribuição de frequência das gerações  $F_1$  e  $F_2$  e do cruzamento foi:

Comprimento da corola (mm)	$P_1$	$P_2$	$F_1$	$F_2$
34	1			
37	4			
40	28			
43	16			
46				
49				
52				1
55			4	5
58			10	16
61			41	23
64			75	18
67			40	62
70			3	7
73				25
76				1
79				6
82				4
85				22
88		2		
91		16		
94		32		
97		6		
100		1		
Média	40,61	93,37	63,53	69,78
Desvio (s)	2,00	2,23	2,92	6,79
Total	49	57	173	190

Fonte: East, 1916

Veja que ocorreu variação no comprimento da corola das plantas do  $P_1$  e  $P_2$ . Essa variação deve ser toda ambiental, pois os genitores eram homocigotos para o referido

caráter. A média da geração  $F_1$  foi intermediária entre os genitores. Nessa geração, também ocorreu variação pelo efeito do ambiente, uma vez que na geração  $F_1$  todos os indivíduos devem possuir o mesmo genótipo. Na geração  $F_2$  a média foi semelhante a dos genitores e da  $F_1$ . Porém a variação foi muito maior. Essa maior variação é decorrente do efeito do ambiente, como já comentado anteriormente, mas também à segregação e recombinação dos genes, que controlam o caráter.

A grande variação genética, na geração  $F_2$ , pode ser explicada por meio da hipótese dos fatores múltiplos. Ou seja, se o caráter fosse controlado apenas por um gene, a diferença entre os pais ( $\bar{P}_1 - \bar{P}_2 = D = 93,4 - 40,6 = 52,8$ ) seria explicada por esse único gene. Nesse caso, na geração  $F_2$ , teríamos três genótipos e três fenótipos;  $A^1A^1 = 93,4$  mm;  $A^1A^2 = 67,0$  mm e  $A^2A^2 = 40,6$  mm. A contribuição de cada alelo efetivo seria igual a  $D/m$ , em que,  $m$  é o número de alelos, no caso dois. Então, a contribuição de cada alelo efetivo, favorável para melhorar a expressão do caráter, no exemplo maior comprimento de corola, seria de  $52,8/2 = 26,4$  mm. Com dois genes (A e B) controlando o caráter, a contribuição do alelo efetivo passaria a ser  $D/m = 52,8/4 = 13,2$ . Usando o mesmo raciocínio já comentado, tem-se na geração  $F_2$ .

Frequência fenotípica	Número de Alelos		Fenótipos (mm)
	Efetivos	Não Efetivo	
1/16	4	0	93,4
4/16	3	1	80,2
6/16	2	2	67,0
4/16	1	3	53,8
1/16	0	4	40,6

Considerando mais genes podem-se obter os seguintes dados:

Número de genes	Número de alelos totais	Número de fenótipos	Contribuição de cada alelo efetivo (mm)
1	2	3	26,40
2	4	5	13,200
3	6	7	8,800
4	8	9	6,600
5	10	11	5,280
⋮	⋮	⋮	⋮
10	10	21	2,640
⋮	⋮	⋮	⋮
100	200	201	0,264
⋮	⋮	⋮	⋮
n	$m = 2n$	$m+1$	$52,8/m$

Veja que o aumento no número de genes diminui a contribuição de cada alelo efetivo para o caráter. O fundamento da hipótese dos fatores múltiplos é o grande número de classes fenotípicas e a pequena contribuição de cada alelo efetivo. Veja na figura 12.1 que, na geração  $F_2$ , a variação genética decorrente do grande número de genes associados ao efeito do ambiente tem uma distribuição quase contínua (normal).

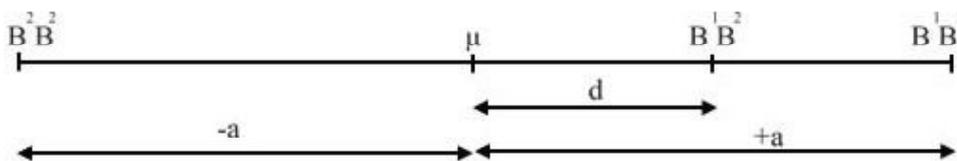
### 12.3 INTERAÇÕES ALÉLICAS

À semelhança do que ocorre para os caracteres qualitativos, os poligenes apresentam também interações alélicas, as quais podem ser aditiva, dominante e sobredominância. Para mostrar como atuam esses três tipos de interação alélica, vamos considerar um modelo de um loco com dois alelos ( $B^1$  e  $B^2$ ), em que  $B^1$  representa o alelo efetivo e  $B^2$  o alelo não efetivo. Dessa forma, na população, ocorrem três genótipos  $B^1B^1$ ,  $B^1B^2$  e  $B^2B^2$ , e que podem ser representados esquematicamente como na Figura 12.2.

Nesse modelo,  $\mu$  representa o ponto médio entre os dois genótipos homocigóticos,  $a$  mede o afastamento de cada genótipo homocigótico em relação à média e  $d$  mede o afastamento do heterocigoto em relação à média.

Utilizando esses desvios, podem-se avaliar os diferentes casos de interação alélica, ou seja, se  $d = 0$ , não há dominância e a interação alélica é chamada aditiva;  $d = a$ , a interação alélica é de dominância completa; se  $0 < d < a$ , a interação alélica é de dominância parcial e, finalmente, se  $d > a$  ocorre sobredominância. A relação  $d/a$  mede o que se denomina grau de dominância de um gene, o qual dá idéia da interação alélica. Assim, se esse valor é zero, a interação alélica é aditiva; quando é igual a 1,0, há dominância completa; para valores compreendidos entre zero e um, ocorre dominância parcial e acima de 1,0, há sobredominância.

Como o caráter quantitativo normalmente é controlado por muitos genes, o que se procura determinar é o tipo de interação alélica predominante, uma vez que, na prática, é impossível conhecer o tipo de interação alélica de cada gene individualmente. Para se fazer inferência sobre o tipo de interação alélica, existem alguns processos que podem utilizar tanto médias como variâncias. No momento, nos interessa apenas mostrar o emprego das médias com essa finalidade.

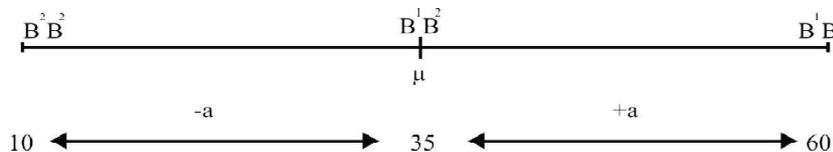


**FIGURA 12.2.** Valores genéticos para o loco **B**. A contribuição dos homozigotos é fornecida por  $\pm a$  e do heterozigoto por  $d$ , em relação à média  $\mu$ .

### 12.3.1 Interação Aditiva

Nesse tipo de interação, cada alelo contribui com um pequeno efeito fenotípico, o qual é somado aos efeitos dos demais alelos. Por exemplo, considerando hipoteticamente dois genes - **A** e **B** - de efeitos iguais com dois alelos cada, e com contribuições  $A^1 = B^1 = 30$  unidades e  $A^2 = B^2 = 5$  unidades, e considerando também que os efeitos dos locos são somados, assim os genótipos  $A^1A^1B^1B^1$  e  $A^2A^2B^2B^2$  terão fenótipos de 120 e 20 unidades, respectivamente.

Tomando o gene **B** como exemplo, podemos representar seu efeito do seguinte modo:



Nesse gráfico, é fácil visualizar que  $a = 25$  unidades, que corresponde à contribuição do alelo efetivo e  $d = 0$ , uma vez que o valor fenotípico do genótipo heterozigoto corresponde à média dos genitores. Veja que  $d/a = 0$ , o que equivale à interação alélica aditiva, como já foi comentado.

O cruzamento entre os indivíduos mencionados produz:

	$P_1$	x	$P_2$
P:			
Genótipos:	$A^1A^1B^1B^1$		$A^2A^2B^2B^2$
Fenótipos:	120 unidades		20 unidades
F <sub>1</sub> :			
Genótipo:		$A^1A^2B^1B^2$	
Fenótipo:		70 unidades	

Como se observa, se a interação alélica é aditiva, a média da geração  $F_1$  é igual à média dos genitores, ou seja:

$$\bar{F}_1 = \frac{\bar{P}_1 + \bar{P}_2}{2}$$

Vejam agora qual será a média da geração  $F_2$ , considerando novamente os dois genes. Os genótipos possíveis na geração  $F_2$  com as suas respectivas frequências e valores fenotípicos estão apresentados na Tabela 12.4. Verifica-se que a média da geração  $\bar{F}_2$  é também igual à média dos genitores e da geração  $\bar{F}_1$ . Outra característica da interação aditiva é que a descendência de qualquer indivíduo ou grupo de indivíduos tem média igual à desse indivíduo ou igual à média do grupo. Seja, por exemplo, o genótipo  $A^1A^2B^1B^1$ , cujo valor fenotípico é 95, se esse indivíduo for autofecundado irá produzir a descendência mostrada na Tabela 12.5, cuja média é, também de 95,0.

Se, por outro lado, forem selecionados todos os indivíduos da geração  $F_2$  com valor fenotípico igual ou superior a 95 unidades, isto é, 1  $A^1A^1B^1B^1$ , 2  $A^1A^1B^1B^2$  e 2  $A^1A^2B^1B^1$ , a descendência obtida pelo intercruzamento é mostrada na Tabela 12.6. Note que a média dos três genótipos selecionados e de seus descendentes é a mesma, isto é, 100 unidades.

**TABELA 12.4.** Genótipos da  $F_2$  com respectivas frequências e valores fenotípicos, assumindo interação alélica aditiva.

Genótipos	Frequência (Fe)	Valor fenotípico (F)	Fe . F
$A^1A^1B^1B^1$	1/16	120	7,500
$A^1A^1B^1B^2$	2/16	95	11,875
$A^1A^1B^2B^2$	1/16	70	4,375
$A^1A^2B^1B^1$	2/16	95	11,876
$A^1A^2B^1B^2$	4/16	70	17,500
$A^1A^2B^2B^2$	2/16	45	5,625
$A^2A^2B^1B^1$	1/16	70	4,375
$A^2A^2B^1B^2$	2/16	45	5,625
$A^2A^2B^2B^2$	1/16	20	1,250
Média da $F_2 = 70,000$			

Essa última observação é de fundamental importância no melhoramento. Veja que, se a interação alélica é aditiva, a seleção é facilitada porque um indivíduo ou grupo de indivíduos superiores, quando selecionados, produzirão uma descendência também superior. Como veremos a seguir, nos outros casos de interação alélica isso não ocorre. Além disso, com interação alélica aditiva, a distribuição em  $F_2$  é simétrica e se assemelha a uma curva normal (Figura 12.1).

**TABELA 12.5.** Genótipos dos descendentes obtidos por autofecundação do indivíduo  $A^1A^2B^1B^1$  com respectivas frequências e valores fenotípicos.

Genótipos	Frequência (Fe)	Valor fenotípico (F)	Fe . F
$A^1A^1B^1B^1$	1/4	120	30,0
$A^1A^2B^1B^1$	2/4	95	47,5
$A^2A^2B^1B^1$	1/4	70	17,5
Média da descendência = 95,0			

**TABELA 12.6.** Genótipos dos descendentes obtidos pelo inter cruzamento dos indivíduos 1  $A^1A^1B^1B^1$ , 2  $A^1A^1B^1B^2$ , 2  $A^1A^2B^1B^1$ , com respectivas frequências e valores fenotípicos, assumindo interação alélica aditiva.

Genótipos	Frequência (Fe)	Valor fenotípico (F)	Fe . F
$A^1A^1B^1B^1$	9/25	120	43,2
$A^1A^1B^1B^2$	6/25	95	22,8
$A^1A^1B^2B^2$	1/25	70	2,8
$A^1A^2B^1B^1$	6/25	95	22,8
$A^1A^2B^1B^2$	2/25	70	5,6
$A^2A^2B^1B^1$	1/25	70	2,8
Média da descendência = 100,0			

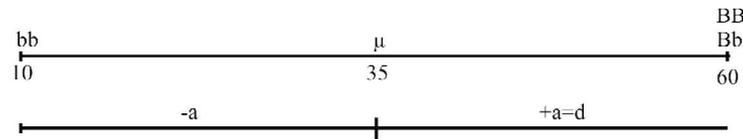
Considerando novamente que  $A^1=B^1=C^1=D^1=30$  unidades e que  $A^2=B^2=C^2=D^2=5$  unidades, a partir do seguinte cruzamento, teremos:

$$\begin{array}{l}
 \text{P: Genótipos: } \begin{array}{c} P_1 \\ A^1A^1B^1B^1C^2C^2D^2D^2 \end{array} \times \begin{array}{c} P_2 \\ A^2A^2B^2B^2C^1C^1D^1D^1 \end{array} \\
 \text{Fenótipos: } \begin{array}{c} 140 \text{ unidades} \\ 140 \text{ unidades} \end{array} \\
 \\
 \text{F}_1: \text{Genótipo: } A^1A^2B^1B^2C^1C^2D^1D^2 \\
 \text{Fenótipo: } 140 \text{ unidades}
 \end{array}$$

Novamente se constata que a interação alélica é aditiva, pois  $\frac{(\bar{P}_1 + \bar{P}_2)}{2} = \bar{F}_1 = 140$  unidades e infere-se também que a média da geração  $\bar{F}_2 = \bar{F}_1 = 140$  unidades. O que chama atenção nesse caso é que, na geração  $F_2$ , deverão ocorrer 81 genótipos diferentes ( $3^n$ ), cujo desempenho irá variar de 240 unidades, genótipo  $A^1A^1B^1B^1C^1C^1D^1D^1$  a 40 unidades, genótipo  $A^2A^2B^2B^2C^2C^2D^2D^2$ . Observe que aparecerão em  $F_2$  indivíduos com desempenho fora do limite dos genitores. Quando isso ocorre, diz-se que ocorreu **segregação transgressiva**. Esse tipo de segregação é que os melhoristas de plantas e animais estão sempre procurando por meio dos cruzamentos; isto é, procuram-se genitores como no exemplo, em que um complementa bem outro após o cruzamento e possibilita que na descendência ocorra segregação transgressiva e possam ser selecionados indivíduos com número de alelos efetivos superiores ao dos pais.

### 12.3.2 Interação Dominante

Nessa situação, é utilizada a contribuição de cada loco e não de cada alelo. Assim sendo, se a contribuição do genótipo  $AA = Aa = BB = Bb = 60$  unidades e a contribuição do genótipo  $aa = bb = 10$  unidades. Esquemáticamente para o loco B, tem-se:



Como  $a = d$ , a relação  $d/a = 1,0$ , mostrando que a interação é de dominância completa. Nessa condição, seja o cruzamento:

	$P_1$	x	$P_2$
P: Genótipos:	<b>AABB</b>		<b>aabb</b>
Fenótipos:	120 unidades		20 unidades
$F_1$ : Genótipo:	<b>AaBb</b>		
Fenótipo	120 unidades		

Nota-se que a média da geração  $F_1$  pode ser igual ao valor de um dos pais, porém será sempre diferente da média dos pais.

Para se estimar a média da geração  $F_2$ , vamos proceder como no caso anterior, colocando os genótipos possíveis, os valores fenotípicos e as suas respectivas frequências, como mostrado na Tabela 12.7.

A média da geração  $F_2$  ( $F_2 = 95,00$  unidades) é diferente da média da geração  $F_1$ . Com esse tipo de interação alélica, a seleção de indivíduos superiores não leva, necessariamente, à produção de uma descendência semelhante ao indivíduo selecionado. Por exemplo, se o indivíduo **AaBB** (120 unidades) for autofecundado, produzirá a seguinte descendência: 1/4 **AABB**, 2/4 **AaBB** e 1/4 **aaBB**, cuja média será igual a 107,5 unidades.

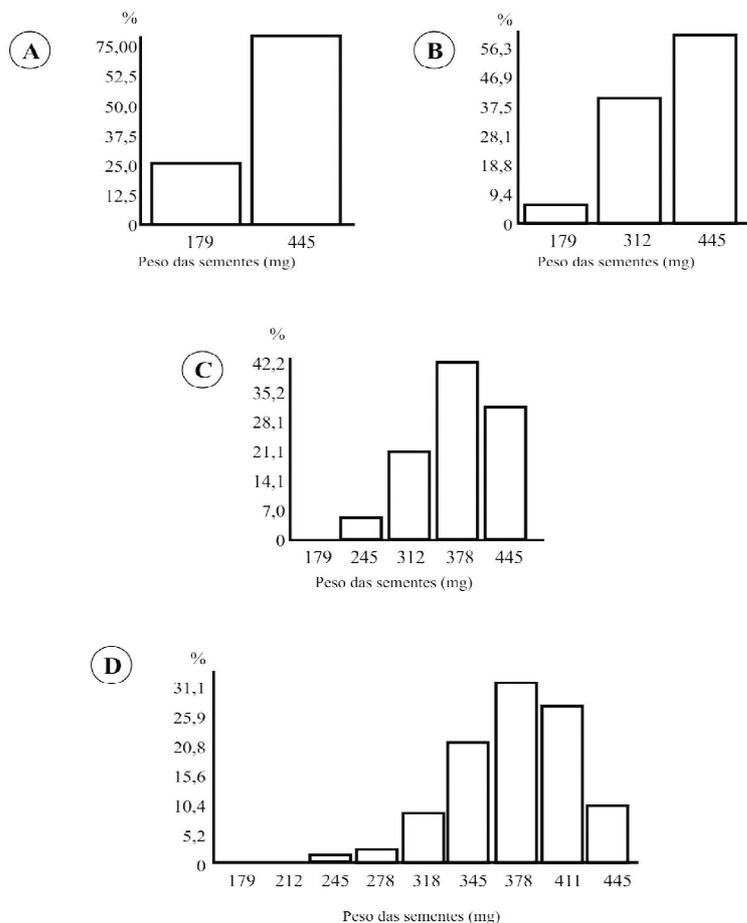
Contrariamente ao que foi mostrado para a interação aditiva, a interação de dominância dificulta a seleção de indivíduos superiores, uma vez que a descendência desse indivíduo terá comportamento inferior a ele próprio. No caso de interação de dominância, para  $n$  genes, a segregação fenotípica é dada pelo binômio  $(a + b)^n$ , lembrando apenas que neste caso, não se trata de frequência alélica e sim de frequência fenotípica, ou seja,  $a$  é diferente de  $b$ , para cada loco  $a=3/4$  e  $b=1/4$ .

Verifica-se, também, que com o aumento no número de genes cresce concomitantemente o número de classes fenotípicas, as quais são dadas por  $n + 1$ . No caso de dominância, a distribuição em  $F_2$ , apesar de ser contínua, não é simétrica e mostra uma inclinação para o lado do fenótipo conferido pelos alelos dominantes (Figura 12.3).

**TABELA 12.7.** Genótipos da F<sub>2</sub> com respectivas frequências e valores fenotípicos, assumindo interação alélica dominância completa.

Genótipos	Frequência (Fe)	Valor fenotípico (F)	Fe . F
AABB	1/16	120	7,500
AABb	2/16	120	15,000
AAbb	1/16	70	4,375
AaBB	2/16	120	15,000
AaBb	4/16	120	30,000
Aabb	2/16	70	8,750
aaBB	1/16	70	4,375
aaBb	2/16	70	8,750
aabb	1/16	20	1,250

Média da geração F<sub>2</sub> = 95,000

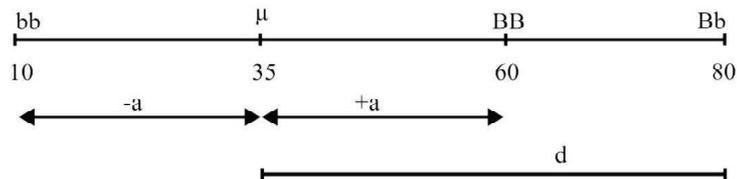


**FIGURA 12.3.** Distribuição de frequência para o caráter peso das sementes do feijoeiro, considerando ausência de efeito ambiental e diferentes números de genes de efeito dominante: A) um gene; B) dois genes; C) quatro genes; D) oito genes.

### 12.3.3 Interação Sobredominância

Nesse caso, o desempenho do heterozigoto **Aa** ou **Bb** ultrapassa o limite dos pais. Assim, a relação  $d/a$  é superior a 1,0. Seja, por exemplo, **AA** = **BB** = 60 unidades, **aa** = **bb** = 10 unidades e **Aa** = **Bb** = 80 unidades.

Esquemáticamente, a contribuição de cada genótipo pode ser assim representada:



O valor de  $d = 45$ , e a relação  $d/a = 45/25 = 1,8$  e evidencia, como já comentado, a ocorrência de sobredominância.

A partir do cruzamento entre dois genitores homozigóticos, obtêm-se:

	$P_1$	x	$P_2$
P: Genótipos:	<b>AABB</b>		<b>aabb</b>
Fenótipos:	120 unidades		20 unidades
F <sub>1</sub> : Genótipo:	<b>AaBb</b>		
Fenótipo	160 unidades		

Verifica-se, assim, que a média da geração  $F_1$  é também diferente da média dos genitores, nesse caso, e superior à do pai, com maior média. A média da geração  $F_2$  é de 115 unidades e, portanto, também inferior à da geração  $F_1$ .

É importante comentar que, na prática, é quase impossível distinguir a ocorrência de interação alélica dominante e sobredominante. Isso porque elas apresentam propriedades semelhantes, tais como: a média da geração  $F_1$  é diferente da média dos pais e da geração  $F_2$ , a distribuição fenotípica da geração  $F_2$  é assimétrica, e a descendência de qualquer indivíduo heterozigótico, via de regra, apresenta média inferior ao próprio indivíduo. Entretanto, poderia se argumentar que a distinção entre esses dois tipos de interação pudesse ser feita baseando-se na média da geração  $F_1$ . Assim, se a média da geração  $F_1$  fosse superior à do melhor genitor, a conclusão seria a de que a interação é de sobredominância, ao passo que na interação de dominância a média da  $F_1$  seria no máximo igual à do pai com melhor desempenho. Contudo, esse argumento é válido somente se os genitores são completamente contrastantes. Se dois genitores não são completamente contrastantes, a média da  $F_1$  é superior à dos dois genitores, mesmo estando presente apenas a interação dominância completa. Seja, por exemplo:  $A_+ = B_+ = 60$  unidades e  $aa = bb = 10$  unidades.

	$P_1$	x	$P_2$
P: Genótipos:	<b>AA<b>bb</b></b>		<b>aa<b>BB</b></b>
Fenótipos:	70 unidades		70 unidades
F <sub>1</sub> : Genótipo:	<b>Aa<b>Bb</b></b>		
Fenótipo:	120 unidades		

Se há sobredominância no indivíduo heterozigótico, uma hipótese consiste na produção de duas enzimas funcionais, cujo desempenho em termos fenotípicos seria superior ao de uma ou outra das enzimas produzidas pelos indivíduos homozigóticos.

É necessário salientar ainda que as interações de dominância e/ou sobredominância nem sempre atuam no sentido de aumentar o valor fenotípico. Elas podem ocorrer reduzindo a expressão do caráter. Por exemplo, a cultivar de feijão Goiano Precoce floresce com aproximadamente 35 dias, enquanto a 'Ricopardo' tem florescimento com 45 dias. A geração F<sub>1</sub>, obtida pelo cruzamento entre essas cultivares, apresentou florescimento aos 35 dias, isto é, a média da F<sub>1</sub> é inferior à média dos pais, em cinco dias.

Vejamos a aplicação desses conceitos de interação alélica, relativos às médias apresentadas na Tabela 12.1. Para verificar o tipo de interação alélica predominante, devemos comparar a média dos genitores com a média das gerações F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub>. Os dados obtidos foram:

$$\bar{P}_1 = 445\text{mg}; \bar{P}_2 = 179\text{mg}; \bar{F}_1 = 279\text{mg}; \bar{F}_2 = 266\text{mg}.$$

Nesse exemplo, a média dos genitores é:  $\frac{445+179}{2} = 312 \text{ mg}$ .

Considerando que esses dados foram obtidos sob condições de campo e, portanto, sujeitos a um erro experimental, a coincidência exata entre os valores nunca irá ocorrer. Devemos então aplicar um teste de média para verificar se a variação é do acaso ou não. Nessa situação, foi verificado que o desvio das médias foi decorrente do acaso e, portanto, podemos considerar que as médias não diferem ( $t = 1,80\text{NS}$ ) e, conseqüentemente, a interação alélica predominante é aditiva.

#### 12.3.4 Heterose

Finalmente, deve-se enfatizar que quando há predominância de interação alélica dominante e/ou sobredominante, a seleção de indivíduos superiores não é a melhor estratégia a ser adotada num programa de melhoramento. Ao contrário, a atenção do melhorista deve ser voltada para a obtenção de híbridos. A superioridade dos híbridos deve-se ao fenômeno denominado **heterose** (h) ou **vigor híbrido**, que é definido pela expressão:

$$h = \bar{F}_1 - \frac{\bar{P}_1 + \bar{P}_2}{2}$$

Por essa expressão, é fácil entender que a heterose ocorre sempre que a interação alélica for não aditiva, ou seja, tem que existir alguma dominância. Pode-se visualizar também que a heterose é dependente do desempenho dos genótipos heterozigóticos em relação aos homozigotos, isto é, só há heterose se existir heterozigose. Assim, para um mesmo cruzamento, a heterose será máxima na geração  $F_1$  quando houver o máximo de heterozigose. Na  $F_2$ , a proporção de heterozigotos é de apenas 50% - lembre-se de que uma autofecundação reduz a proporção de heterozigotos em 50%. Dessa forma, podemos determinar a média da geração  $\bar{F}_2$  pela expressão:

$$\bar{F}_2 = \bar{F}_1 - \frac{h}{2}$$

Nas demais gerações -  $F_3, F_4$  etc. -, a heterozigose é reduzida à metade da geração anterior, o mesmo acontecendo com a heterose. Assim, por exemplo, a média da geração  $F_3$  será:

$$\bar{F}_3 = \bar{F}_2 - \frac{h}{4}$$

A média da geração  $F_g$  será,  $\bar{F}_g = \bar{F}_{g-1} - \frac{h}{2^{g-1}}$  em que  $g$  representa o número de gerações.

Representando de outra forma, teremos:

$$\bar{F}_g = \bar{F}_1 - \left( \frac{2^{g-1} - 1}{2^{g-1}} \right) h$$

Essa última fórmula tem a vantagem de facilitar o cálculo, pois não há necessidade de se obter a média da geração  $F_{g-1}$ .

Para ilustrar, veja o exemplo mostrado anteriormente em que ocorreu dominância. Naquela situação, tínhamos:

	$P_1$	x	$P_2$
P: Genótipos:	<b>AABB</b>		<b>aabb</b>
Fenótipos:	120 unidades		20 unidades
$F_1$ : Genótipo:	<b>AaBb</b>		
Fenótipo:	120 unidades		

A heterose, nesse caso, é:  $h = 120 - \frac{120+20}{2}$ ;  $h = 120 - 70 = 50$  unidades. A média da geração  $F_2$  é:  $\bar{F}_2 = 120 - \frac{50}{2} = 95$  unidades. Ou seja, o mesmo valor estimado por meio dos genótipos possíveis dessa geração (Tabela 12.7).

É fácil inferir que o aproveitamento da heterose máxima só será obtido se for utilizada a geração  $F_1$ . No caso de plantas de propagação sexuada, isso só será possível produzindo novamente anualmente a semente  $F_1$ . Esse é o procedimento adotado em várias culturas como a do milho, em que a semente híbrida deve ser adquirida todo ano. No caso das plantas que possuem propagação assexuada como a cana-de-açúcar e eucalipto, a heterose obtida por meio do cruzamento poderá ser perpetuada empregando-se a propagação assexuada do indivíduo.

### BOX 12.2. O QUE É HETEROSE

Como foi comentado a heterose é o desempenho superior da geração  $F_1$  em relação a média dos pais. O termo foi criado no início do século XX por Shull. Também é conhecido como vigor híbrido. Foi a principal descoberta que possibilitou o desenvolvimento de toda a indústria sementeira. A presença da heterose depende do caráter. Assim no caso do milho, por exemplo, a heterose para a produtividade de grãos é muito grande. Já, para o número de folhas por planta, pode não ser tão expressivo.

A máxima heterose é observada na geração  $F_1$ . Nas demais gerações, ela será reduzida em função da endogamia. O resultado de um dos primeiros trabalhos que evidenciou esse fato foi obtido para a produtividade de grãos de milho por Jones, em 1924. O trabalho foi realizado no período de 1917 a 1923, o que possibilitou chegar até a geração  $F_8$ . É possível notar que a produtividade média da geração  $F_1$ , embora variasse entre os anos, efeito ambiental, foi sempre superior aos genitores e às demais gerações. Na média dos anos, veja que a produtividade da geração  $F_1$ , 101,2g foi bem superior a média dos genitores. A heterose foi de  $h_{F_1} = F_1 - \left( \frac{P_1 + P_2}{2} \right) = 81,65$ . Já na  $F_8$  a média passou para 27,2 e a heterose nessa geração foi de apenas  $7,65 = \left[ h_{F_8} = F_8 - \left( \frac{P_1 + P_2}{2} \right) \right]$ . Fica claro pelos resultados que a média foi máxima na geração  $F_1$  e decresceu acentuadamente com a autofecundação, como pode ser visto a seguir:

Ano	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>3</sub>	F <sub>4</sub>	F <sub>5</sub>	F <sub>6</sub>	F <sub>7</sub>	F <sub>8</sub>
1917	5,5	21,5	64,5	56,0						
1918	23,5	26,9	120,6	128,4	15,1					
1920	27,8	16,2	127,6	47,6	34,8	29,0	9,9			
1921	13,1	19,6	72,8	54,5	49,2	32,7	15,3	23,1		
1922	26,1	20,0	160,4	83,2	73,7	67,5	48,8	35,7	22,7	
1923	21,0	13,2	61,0	45,0	40,5	47,0	15,8	23,0	26,2	27,2
Média	19,5	19,6	101,2	69,1	42,7	44,1	22,5	27,3	24,5	27,2

Dados de produção de grãos de milho em Bushels (B) por acre; (1B = 25,4 Kg)  
 Fonte: Jones, 1924 apud Merrell, 1975.

### BOX 12.3. POR QUE OCORRE HETEROSE?

Existem algumas hipóteses para explicar a ocorrência da heterose. Especialmente duas delas têm permanecido por várias décadas. As hipóteses da dominância e da sobredominância. A de dominância foi proposta por Jones, em 1917. Segundo ele, os genes responsáveis pelo crescimento e desenvolvimento dos indivíduos apresentam interação alélica de dominância ou pelo menos dominância incompleta. Nessa condição, os alelos responsáveis pelo fenótipo inferior ou até mesmo deletério, são recessivos. Como os caracteres quantitativos são controlados por muitos genes, um indivíduo ou linhagem, tem vários locos com alelos dominantes em homozigose, mas também possui inúmeros outros com alelos recessivos (prejudiciais). Quando se cruzam duas linhagens diferindo nos locos com alelos recessivos em homozigose, o híbrido F<sub>1</sub> terá grande número de locos em heterozigose e ocorrendo dominância, o desempenho do F<sub>1</sub> será superior as linhagens parentais, ocasionando o vigor híbrido – heterose. Veja que a heterose será tanto maior quanto mais divergente forem as linhagens parentais, ou seja, nos locos em que uma das linhagens tem alelos desfavoráveis a outra possui alelos favoráveis. Nessa situação é mencionado que essas linhagens possuem boa capacidade de combinação, isto é, se complementam bem.

A perda do vigor na geração F<sub>2</sub> e nas gerações subsequentes, quando autofecundados, ocorre porque os locos em F<sub>1</sub>, que estiverem em heterozigose, irão segregar, ocorrendo indivíduos com locos com alelos prejudiciais em homozigose e o desempenho médio será menor. Se isso for correto, como contesta o argumento dos críticos da hipótese de dominância, por que ainda não foi obtida a linhagem com todos os

alelos favoráveis em homozigose, que irá ter desempenho igual ao do melhor híbrido  $F_1$  existente? A resposta para essa indagação pode ser dada considerando que a probabilidade de se obter essa tal linhagem é infinitamente pequena. Seja, por exemplo, um caráter controlado por 50 genes. Se um indivíduo for heterozigoto para esses 50 genes a probabilidade em  $F_2$  de que um indivíduo possua todos os alelos favoráveis em homozigose será de um em  $4^{50}$ . A magnitude desse número  $4^{50}$  é tal que seria necessário, por exemplo, com a cultura do milho, cultivar uma área muitas vezes superior a área agrícola do planeta para se ter essa população. A população de milho para se ter todos os genótipos em  $F_2$  considerando 30 genes, ocuparia uma área igual a 2000 vezes a área da terra. Adicionalmente, é impossível identificar, nessa população a única planta com genótipo desejado. As informações existentes atualmente, especialmente com a cultura do milho, é que o desempenho das linhagens, em produtividade de grãos esta melhorando, ou seja, está ocorrendo incremento gradativo nos locos com alelos favoráveis nas linhagens atuais (Troyer; Wellin, 2009). Contudo, o desempenho das melhores linhagens existentes ainda não é comparável ao dos melhores híbridos.

A outra hipótese é a da sobredominância. Foi proposta também, no início do século XX, por East. A idéia é que os locos em heterozigose teriam comportamento superior a ambos homozigotos. Por essa hipótese, a heterozigose, por si mesma, seria a responsável pela heterose. Como na geração  $F_1$  ocorre o máximo de heterozigotos, daí a importância de se ter híbridos  $F_1$  para se obter o máximo de heterose. Assim, a procura de bons híbridos seria no sentido de obter o máximo de locos em heterozigose, o que seria possível, se as duas linhagens fossem completamente contrastantes, isto é, nos locos em que uma linhagem é **BB** a outra é **bb**. Para que essa hipótese fosse verdadeira, em nível molecular seria necessário que o alelo **B** produzisse uma cadeia polipeptídica e o alelo **b** outra cadeia. As duas cadeias, no indivíduo híbrido se interagissem para originar uma enzima híbrida com desempenho superior a derivada de **BB** ou **bb**. Apesar dos avanços em biologia molecular, não foi encontrado, em nenhum loco, evidência convincente da ocorrência da referida “enzima híbrida”. Imaginemos a ocorrência dessa “enzima híbrida” para todos os locos que iria ocorrer para se ter a heterose máxima. Como é difícil separar, na prática, a ocorrência de dominância e sobredominância, a dúvida sobre qual dessas duas hipóteses é mais plausível ainda persiste.

Outras hipóteses têm sido sugeridas. Merrell (1975), por exemplo, comenta um caso interessante no tomateiro. Foi cruzada a linhagem A que tem poucos frutos, porém grandes com a linhagem B, com frutos pequenos, porém numerosos. A  $F_1$  apresentou

número de frutos mais ou menos intermediário ao observado nos genitores e o mesmo ocorrendo com o peso dos frutos. Nesse exemplo infere-se que a interação alélica é aditiva, ou usando um maior rigor científico poder-se-ia dizer que a dominância parcial no sentido do menor número e peso dos frutos, veja os resultados a seguir:

Linhagem/F <sub>1</sub>	Número de frutos (n)	Peso dos frutos (g)	Produtividade por planta (g)
A	4,4	138	607
B	109,1	17	1868
F <sub>1</sub> (AxB)	44,5	55	2428

Fonte: Adaptado Merrell (1975)

Observe, contudo, que na produtividade por planta, tem-se heterose. Como a média da F<sub>1</sub> foi de 2428g e a média dos genitores de 1237,5g, a heterose foi de 1190,5g. A produtividade por planta é na realidade o produto do número de frutos com peso dos frutos. Veja que esses dois caracteres se complementaram para ter efeito em um terceiro caráter. Em princípio, pode-se argumentar que, nesse caso, a heterose foi decorrente da epistasia, interação dos genes dos dois caracteres.

## 12.4 PREDIÇÃO DA MÉDIA DE UM CARÁTER EM POPULAÇÕES OBTIDAS POR CRUZAMENTO

Como já foi explicado, uma das finalidades do conhecimento da genética no melhoramento de plantas e animais é a de permitir que sejam feitas previsões de um dado caráter, com boa margem de segurança. Assim, será mostrado como são feitas as previsões do rendimento de híbridos ou de qualquer população proveniente de cruzamento. Para isso, é utilizada a expressão apresentada por Vencovsky (1987):

$$\bar{M} = |X| |Y|$$

em que:

$\bar{M}$  é a média da população descendente do cruzamento.

X e Y - representam a proporção de alelos de cada um dos genitores que serão cruzados para produzir a população de média .

A obtenção de híbridos é um procedimento empregado em muitas plantas e animais porque, muitas vezes, apresentam o fenômeno de heterose ou vigor híbrido. Muito utilizado principalmente na cultura do milho, é a obtenção dos denominados híbridos duplos, obtidos

pelo cruzamento entre quatro linhagens. Por exemplo, com as linhagens A, B, C e D podemos obter os seguintes híbridos duplos:

$$(A \times B) \times (C \times D) \quad (A \times C) \times (B \times D) \quad (A \times D) \times (B \times C)$$

Como o melhorista de milho não trabalha apenas com quatro linhagens, mas sim com um número muito elevado, o número de híbridos duplos possíveis é enorme. Esse número pode ser estimado pela expressão:

$$NHD = \frac{3(k!)}{4!(k-4)!} = \frac{k(k-1)(k-2)(k-3)}{8}$$

em que:

NHD - número de híbridos duplos possíveis

k - número de linhagens

Apenas para exemplificar, com dez linhagens, é possível a obtenção de 630 híbridos duplos diferentes. O problema do melhorista é justamente descobrir, dentre os possíveis híbridos duplos, aquele que é mais promissor. É importante enfatizar que, para identificar o melhor híbrido duplo, o melhorista deveria sintetizar todos os híbridos possíveis e, o que é mais difícil ainda, avaliá-los em condições de campo. Considerando, como já comentado, que o melhorista sempre dispõe de um número muitas vezes superior a dez linhagens, a obtenção e avaliação dos híbridos duplos possíveis fica impraticável. Para solucionar esse problema, a única opção viável para o melhorista é utilizar a expressão de predição de média apresentada anteriormente. Com base nas predições, ele irá sintetizar e avaliar somente aqueles híbridos que, de antemão, mostrarem ser agronomicamente superiores.

Vejamus uma aplicação: suponhamos o híbrido duplo  $(A \times B) \times (C \times D)$ . Se X é o híbrido simples (HS) A x B e Y o (HS) C x D, podemos escrever que:

$$X = (1/2)A + (1/2)B \text{ e } Y = (1/2)C + (1/2)D$$

ou seja, X contém, em seu genótipo, metade dos alelos de A e metade de B, e Y contém metade dos alelos de C e metade de D.

Substituindo X e Y em  $\bar{M}$ , tem-se:

$$\bar{M} = [(1/2) A + (1/2) B] [(1/2) C + (1/2) D]$$

$$\bar{M} = 1/4 (\overline{AC} + \overline{AD} + \overline{BC} + \overline{BD})$$

Assim sendo, a média do híbrido duplo  $(A \times B) \times (C \times D)$  pode ser estimada a partir da média dos híbridos simples não parentais, provenientes das mesmas quatro linhagens, ou seja, das médias **AC**, **AD**, **BC**, **BD**. Observe que para fazer a predição das médias dos 630 HD provenientes das dez linhagens, o melhorista deverá obter, por meio de experimentos no campo, as médias de produção de todos os híbridos simples possíveis.

O número de híbridos simples é dado por  $NHS = \frac{k(k-1)}{2}$ , que, nesse exemplo, com  $k = 10$  linhagens, corresponde a 45. Portanto, o número de híbridos simples a ser sintetizado e avaliado no campo é bem inferior ao número de híbridos duplos. Esse menor número de híbridos a serem avaliados facilita o trabalho do melhorista, pois permite uma melhor precisão nos experimentos, em razão da menor área experimental requerida, além de baratear o custo das avaliações.

Consideremos os dados apresentados na Tabela 12.8 referentes à produção de grãos (t/ha) de cinco linhagens de milho e dos dez híbridos simples produzidos com as mesmas. Utilizando a expressão para estimar o número de híbridos duplos diferentes, verifica-se que com cinco linhagens são possíveis 15 híbridos duplos. A partir dos dados da Tabela 12.8, pode-se estimar a produção de todos eles. Por exemplo, para o híbrido duplo  $(A \times B) \times (C \times D)$ , a produção média será fornecida por:

$$\bar{M} = \left[ \left( \frac{1}{2} A + \frac{1}{2} B \right) \right] \left[ \left( \frac{1}{2} C + \frac{1}{2} D \right) \right]$$

$$\bar{M} = 1/4 (\overline{AC} + \overline{AD} + \overline{BC} + \overline{BD})$$

**TABELA 12.8.** Produção de grãos de milho (t/ha) de cinco linhagens (na diagonal) e de seus híbridos simples descendentes (acima da diagonal).

Linhagens	A	B	C	D	E
A	<b>1,43</b>	4,93	2,40	6,11	4,51
B		<b>1,58</b>	5,14	4,23	4,17
C			<b>1,40</b>	5,12	5,15
D				<b>1,38</b>	2,21
E					<b>1,26</b>

Fonte: Vencovsky, 1977.

Uma pergunta comumente formulada é: qual será a produção média se o agricultor plantar a semente do híbrido que ele colheu, ou seja, qual é a produção esperada da geração  $F_2$

do híbrido duplo? A expressão para predição da média permite também fornecer essa estimativa. Nessa situação, a geração  $F_2$  do híbrido duplo  $(A \times B) \times (C \times D)$  é proveniente do cruzamento  $[(A \times B) \times (C \times D)] \times [(A \times B) \times (C \times D)]$ . Nesse caso, a contribuição dos gametas masculinos e femininos é a mesma, uma vez que possuem a mesma origem. Desse modo,  $X = Y$  e  $\bar{M} = |X^2|$ . Como o híbrido duplo possui alelos das linhagens **A**, **B**, **C** e **D**, com igual proporção, tem-se  $X = (1/4)A + (1/4)B + (1/4)C + (1/4)D$  e a média será obtida por:

$$\bar{M} = 1/16(\overline{AA} + \overline{BB} + \overline{CC} + \overline{DD} + 2\overline{AB} + 2\overline{AC} + 2\overline{AD} + 2\overline{BC} + 2\overline{BD} + 2\overline{CD})$$

Observa-se que, nesse caso, as médias das linhagens **AA**, **BB**, **CC**, **DD** também contribuem para a média da geração  $F_2$  do híbrido duplo. Substituindo pelos valores apresentados na Tabela 12.8, obtém-se  $\bar{M} = 3,85$  t/ha.

Constata-se, como esperado, que ocorre redução na produção da geração  $F_2$ . Na geração  $F_1$ , a média foi de 4,47 t/ha e na geração  $F_2$ , foi de 3,85 t/ha, ou seja, houve uma redução de cerca de 14,0%.

Na Tabela 12.9, estão apresentadas as estimativas do rendimento de grãos, em t/ha, da geração  $F_1$  e  $F_2$ , bem como a percentagem de redução na produção da geração  $F_2$  em relação à  $F_1$  para os 15 híbridos duplos possíveis. Observa-se que o híbrido duplo com maior rendimento foi  $(A \times C) \times (B \times D)$ . Constata-se também que os híbridos duplos contendo as mesmas linhagens apresentaram o mesmo rendimento na geração  $F_2$ , como, por exemplo, os híbridos  $(A \times B) \times (C \times D)$ ,  $(A \times C) \times (B \times D)$  e  $(A \times D) \times (C \times B)$ . A redução na produção da geração  $F_2$  em relação ao  $F_1$  foi maior nos híbridos que apresentaram maior produção - heterose - na geração  $F_1$ .

Na exploração avícola, os pintinhos de um dia também são híbridos duplos semelhantes ao que ocorre no milho. No Brasil, a maior parte do material melhorado é proveniente de outros países, principalmente Canadá e Estados Unidos. Nesses países, ficam as denominadas linhagens avós (Figura 12.4). O macho da linhagem **A** é cruzado com a fêmea de **B**, obtendo-se o híbrido simples **AB**. De modo análogo, é obtido o híbrido simples **CD**. Um macho **AB** é cruzado com uma fêmea **CD**, obtendo-se o híbrido duplo **(ABCD)**. É a geração  $F_1$  desse material que é vendida aos avicultores - “pintos de um dia”. Veja que o segredo - patente natural do híbrido - é mantido pela empresa de melhoramento, por meio das linhagens avós, que evidentemente nunca são comercializadas. Observe que nesse caso pode ser comercializado o macho de uma linhagem com a fêmea da outra, porque a perpetuação da sua combinação é mantida só em presença da fêmea da mesma linhagem que fica sobre sete chaves na empresa.

**TABELA 12.9.** Estimativa da produção média esperada dos 15 híbridos duplos obtidos a partir de cinco linhagens.

Híbrido duplo	Médias (t/ha)		% de redução na produção da geração F <sub>2</sub>
	Geração F <sub>1</sub>	Geração F <sub>2</sub>	
(A x B) x (C x D)	4,47	3,85	13,87
(A x C) x (B x D)	5,33	3,85	27,77
(A x D) x (C x B)	4,17	3,85	7,67
(A x E) x (C x B)	4,16	3,64	12,50
(A x E) x (D x B)	4,36	3,62	16,97
(A x B) x (C x E)	4,06	3,64	10,34
(A x B) x (D x E)	4,76	3,62	23,95
(A x C) x (B x E)	4,93	3,64	26,17
(A x C) x (D x E)	5,22	3,53	32,28
(A x D) x (B x E)	3,97	3,62	8,82
(A x D) x (C x E)	3,56	3,53	0,84
(B x C) x (D x E)	4,67	3,60	22,91
(B x D) x (C x E)	4,16	3,60	13,46
(B x E) x (C x D)	4,18	3,60	13,88
(A x E) x (C x D)	3,97	3,53	11,08

A expressão para predição de média apresentada pode também ser utilizada quando são realizados cruzamentos entre duas raças diferentes produzindo a geração F<sub>1</sub>, que é chamada de mestiços. Existem muitos tipos de cruzamentos possíveis, por exemplo, a partir da raça holandesa e uma raça zebuína, pode-se obter vários tipos de rebanhos, como mostrado na Tabela 12.10.

Genética na Agropecuária

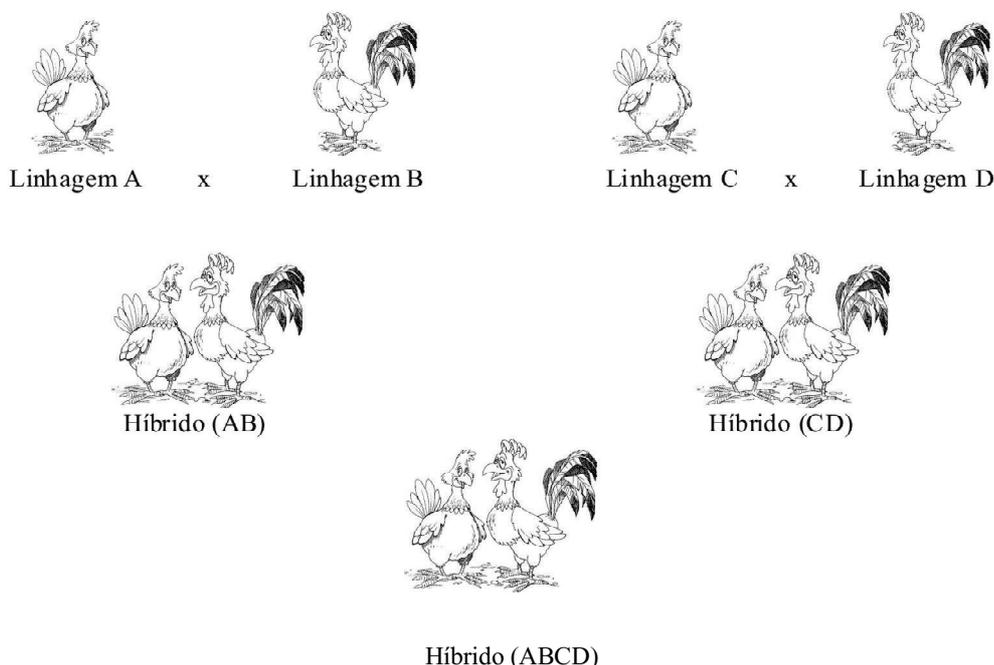


FIGURA 12.4. Esquema da produção de híbridos de aves.

TABELA 12.10. Alguns tipos de rebanhos obtidos com base no cruzamento entre bovinos das raças holandesa (H) e zebuína (Z).

Tipo de cruzamento	Tipo de rebanho
H x Z	(1/2 H + 1/2 Z)
(H x Z) x H	(3/4 H + 1/4 Z)
[(H x Z) x H] x H	(7/8 H + 1/8 Z)
[(H x Z) x H] x Z	(3/8 H + 5/8 Z)

O termo “grau de sangue” é comumente utilizado para indicar a percentagem média de alelos de uma determinada raça que o rebanho possui. É um termo impróprio, uma vez que é do conhecimento de todos que não há relação entre sangue e transmissão de caracteres hereditários. Para mostrar que  $3/4 H + 1/4 Z$  corresponde a um rebanho em que 75% dos alelos são da raça holandesa e 25% da raça zebuína, vamos supor que a produção de leite seja controlada por três genes e que os genótipos dos genitores sejam:

P:	Holandês	x	Zebu
Genótipos:	<b>AABBCC</b>		<b>aabbcc</b>
F <sub>1</sub> :			Mestiço
Genótipo:			<b>AaBbCc</b>

Veja que o mestiço possui 50% dos alelos que vieram do holandês - letras maiúsculas - e 50% que provieram do zebu - letras minúsculas -, daí, utilizar-se impropriamente a expressão “1/2 sangue”. Se vacas mestiças (**AaBbCc**) forem acasaladas com um touro holandês (**AABBCC**), obtêm-se os descendentes mostrados na Tabela 12.11.

Os dados da Tabela 12.11 indicam que no rebanho (população) 3/4 dos alelos são provenientes da raça holandesa (36:48), e 1/4 da raça zebuína (12:48). Essa é a razão do zootecnista utilizar a expressão 3/4 de sangue do holandês e 1/4 de sangue do zebu.

Achamos oportuno explicar o significado genético do termo “raças puras”. Segundo Lush (1964), essa expressão tem sido usada no melhoramento dos animais para se referir à ascendência e não corresponde ao termo genético “homozigose”. Assim, um animal puro-sangue (PO ou PC) é aquele que apresenta expressões fenotípicas dentro dos padrões raciais e são obtidos por acasalamentos, por tantas gerações quantas são exigidas pelas normas de registro da raça. Ao contrário do que se possa pensar, os animais puros-sangue são altamente heterozigóticos, apresentando homozigose, principalmente nos locos que controlam características morfológicas marcantes. De fato, a endogamia intensa (aumento da homozigose) é grandemente evitada entre os animais domésticos e sua prática constante, via de regra, traz efeitos prejudiciais.

**TABELA 12.11.** Genótipos dos descendentes do acasalamento entre vacas mestiças com um touro holandês, obtendo-se um rebanho 3/4 H + 1/4 Z.

Genótipos dos Descendentes	Número de alelos	
	Holandês	Zebu
AABBCC	6	0
AABBCc	5	1
AABbCC	5	1
AABbCc	4	2
AaBBCC	5	1
AaBBCc	4	2
AaBbCC	4	2
AaBbCc	3	3
Total	36	12

Vejam agora como fazer a predição de média de vários tipos de rebanho, possuindo apenas a produção observada dos genitores e da geração  $F_1$  (mestiço). Para isso, serão utilizados os dados apresentados na Tabela 12.12, para a produção de leite de animais mestiço e das raças holandesa e zebu.

Com esses dados, pode-se prever, por exemplo, a produção de um rebanho ( $3/4 H + 1/4 Z$ ). Sabemos que esse rebanho é obtido pelo cruzamento  $(1/2 H + 1/2 Z) \times H$ . Utilizando a expressão  $\bar{M} = \frac{1}{2}(\overline{HX} + \overline{HY})$  e considerando  $X = (1/2)H + (1/2)Z$  e  $Y = H$ , tem-se:  $\bar{M} = 1/2(\overline{HH} + \overline{HZ}) = 2414$  litros/animal/ano.

**TABELA 12.12.** Produção de leite em litro/animal/ano para mestiço e as raças holandesa e zebuína.

Plantel	Produção de leite (litro/animal/ano)
Zebu (Z)	1.582
Mestiço (HZ)	2.527
Holandês (H)	2.302

Fonte: Vencovsky, 1977.

Observe que na estimativa da média do rebanho  $3/4 H + 1/4 Z$  há a contribuição de metade dos locos do holandês mais metade do mestiço (Tabela 12.11).

Do mesmo modo, pode ser feita a predição da 2ª geração do rebanho ( $3/4 H + 1/4 Z$ ). Esse rebanho é obtido pelo cruzamento de machos e fêmeas ( $3/4 H + 1/4 Z$ ) entre si, ou seja:

$$\bar{M} = \frac{1}{2}(\overline{3/4H + 1/4Z} | \overline{3/4H + 1/4Z}) = 1/16(9\overline{HH} + 6\overline{HZ} + \overline{ZZ}) = 2341 \text{ litros/animal/ano.}$$

No caso de bovinos, um modo prático de se saber a proporção alélica do rebanho obtido de um determinado acasalamento é a seguinte: seja, por exemplo, o cruzamento dos rebanhos  $[(3/4)H + (1/4)Z] \times [(1/2)H + (1/2)Z]$ . Lembrando que o acasalamento é a união de gametas, teremos no gameta do macho  $(3/8)H + (1/8)Z$ , isto é, metade dos alelos do genitor. Pela mesma razão, o gameta da fêmea conterá  $(1/4)H + (1/4)Z$ . Na fertilização, teremos a soma desses gametas, isto é,  $\sigma^{\cdot} (3/8)H + (1/8)Z + \text{♀} (1/4)H + (1/4)Z = (5/8)H + (3/8)Z$ .

É interessante observar que assim procedendo, pode-se conhecer a constituição resultante de qualquer rebanho obtido, possuindo apenas o desempenho dos pais e do mestiço. Na Tabela 12.13, estão apresentadas algumas dessas estimativas.

Nota-se, por exemplo, que a produção da segunda geração -bimestiço- é sempre inferior à da primeira geração. Essa redução na sua produção é explicada em razão da segregação e recombinação dos genes e à presença da interação alélica dominante e/ou sobredominante no controle da herança desse caráter, isto é, em decorrência da redução da heterose.

Finalmente, é importante salientar que esse processo de estimar a média de uma população é válido para qualquer caráter quantitativo, mas, para isso, é necessário:

- Que não ocorra interação entre os locos que controlam o caráter – interação gênica;
- Que as populações originais - linhagens, variedades, raças etc. - devam ser geneticamente estáveis.
- Que o híbrido ou mestiço seja explorado nas mesmas condições de ambiente em que os dados dos genitores ou raças foram obtidos.

**TABELA 12.13.** Produção média de leite estimada para vários rebanhos com diferentes proporções de alelos das raças holandesas e zebuínas.

Rebanho	Produção estimada de leite em litros/animal/ano	
	1ª geração	2ª geração
(1/8 H + 7/8 Z)	1.818	1.800
(1/4 H + 3/4 Z)	2.054	1.981
(3/8 H + 5/8 Z)	2.291	2.126
(1/2 H + 1/2 Z)	2.527	2.234
(5/8 H + 3/8 Z)	2.471	2.306
(3/4 H + 1/4 Z)	2.414	2.346
(7/8 H + 1/8 Z)	2.358	2.340

**BOX 12.4. PREDIÇÃO MÉDIA NO PORQUINHO DA ÍNDIA**

Foi realizado o cruzamento entre duas linhagens de porquinho da Índia e os resultados aos 500 dias após o nascimento, foram:

Populações	Peso em gramas
Linhagem 39 (A)	780
Linhagem 2 (B)	910
F <sub>1</sub> (AxB)	1000

Veja que ocorre heterose, o peso do híbrido de 1000g é superior a média dos genitores  $\left(\frac{P_1 + P_2}{2}\right) = \left(\frac{780 + 910}{2}\right) = 845$ .

Assim, a estimativa da heterose é  $h = 1000 - 845 = 155g$ . Pode-se, a partir desses dados, estimar o que é esperado para diferentes populações derivadas da geração F<sub>1</sub>. Se cruzar os irmãos da F<sub>1</sub> tem-se a geração F<sub>2</sub>. A média da geração F<sub>2</sub> pode ser predita por dois estimadores. Um deles seria  $F_2 = F_1 - \frac{h}{2}$ . Isso porque, a redução na heterose da geração F<sub>1</sub> para F<sub>2</sub> é de 50%. Assim  $F_2 = 1000 - \frac{155}{2} = 922,5g$ . Outra opção é usar a expressão

$M = |X||Y|$ . No caso, o X é a contribuição do genitor masculino e Y do genitor feminino. No caso como é geração  $F_1$ ,  $X = Y = 1/2A + 1/2B$ . Então  $F_2 = (1/2A + 1/2B)^2 = 1/4AA + 2/4AB + 1/4BB$ . Assim teremos  $F_2 = 1/4(780) + 2/4(1000) + 1/4(910) = 922,5g$ .

Se o objetivo for obter uma população com  $3/4$  dos alelos do genitor B, ou seja, obter a população  $(3/4B + 1/4A)$ , ela pode ser obtida pelo cruzamento  $F_1 \times B$ . Assim, a média prevista para esse plantel seria:  $M_{(3/4B+1/4A)} = |X||Y|$ , X seria a contribuição alélica da  $F_1$  e o Y do genitor B. Então tem-se:  $M_{(3/4B+1/4A)} = |1/2A + 1/2B||B| = 1/2AB + 1/2BB = 1/2(1000) + 1/2(910) = 955g$ . De modo análogo, se desejamos estimar a média da geração  $F_2$  desse plantel teríamos:  $M_{F_2(3/4B+1/4A)} = |X||Y|$ . Como já visto, nessa condição,  $X = Y = 3/4B + 1/4A$ . Então  $M_{F_2(3/4B+1/4A)} = (3/4B + 1/4A)^2 = 9/16BB + 6/16AB + 1/16AA = 9/16(910) + 6/16(1000) + 1/16(780) = 935,652g$

## 12.5 EMPREGO DE VARIÂNCIA NO ESTUDO DOS CARACTERES QUANTITATIVOS

As estimativas dos componentes da variabilidade existente nas populações e, mais ainda, quanto dessa variabilidade é decorrente das diferenças genéticas é de fundamental importância em qualquer programa de melhoramento, porque permite conhecer o controle genético do caráter e o potencial da população para a seleção. Aqui serão apresentados alguns exemplos de estimativas de parâmetros genéticos e também serão comentadas as principais contribuições dessas estimativas para os geneticistas e melhoristas.

### 12.5.1 Estimativa dos Componentes da Variância

Inicialmente, vamos utilizar parte dos dados obtidos em eucalipto por uma empresa privada referente ao diâmetro das árvores à altura do peito (DAP), aos 78 meses de idade. As árvores da população foram oriundas de sementes e intercaladamente foram colocadas plantas de um clone. O diâmetro, a média e variância do clone e das árvores da população são apresentados na Tabela 12.14.

Veja que, no caso do clone, como foi propagação assexuada de uma única planta, não há variação genética, apenas ambiental. Assim, a variância ( $\hat{\sigma}_c^2 = 2,30$ ) entre plantas do clone é toda ambiental ( $\hat{\sigma}_E^2$ ), isto é,  $\hat{\sigma}_c^2 = \hat{\sigma}_E^2$ . Já, a variância entre as plantas da população, por serem provenientes de sementes, apresentam variação genética e também ambiental. Assim, a variância fenotípica entre as plantas ( $\sigma_F^2$ ) tem uma parte genética e outra ambiental, ou seja,  $\sigma_F^2 = \sigma_E^2 + \sigma_G^2$ . Desse modo, podemos estimar a variância genética entre as plantas como sendo,  $\hat{\sigma}_G^2 = \hat{\sigma}_F^2 - \hat{\sigma}_E^2$ , no caso,  $\hat{\sigma}_G^2 = 8,33 - 2,30 = 6,03$ .

### 12.5.2 Estimativa da Herdabilidade e Ganho com a Seleção

A partir dos resultados mostrados anteriormente, um outro parâmetro de grande utilidade para os melhoristas é a estimativa da herdabilidade ( $h^2$ ). Isso porque ela permite antever a possibilidade de sucesso com a seleção, uma vez que reflete a proporção da variação fenotípica que pode ser herdada. Em outras palavras, ela mede a confiabilidade do valor fenotípico como indicador do valor reprodutivo e é obtida pela expressão:

$$h^2 = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_F^2} \times 100 = \frac{\sigma_F^2 - \sigma_E^2}{\sigma_F^2} \times 100. \text{ No caso, } h^2 = \frac{6,03}{8,33} \times 100 = 72,39\%.$$

**TABELA 12.14.** Diâmetro à altura do peito (DAP) de árvores de uma população de *Eucalyptus cloesiana* obtido em Bocaiuva-MG.

Nº	Planta (DAP)	Nº	Planta (DAP)						
1	10,50	21	12,10	41	12,73	61	13,37	81	7,96
2	13,37	22	14,64	42	9,23	62	11,14	82	6,68
3	7,32	23	10,82	43	13,05	63	9,23	83	11,46
4	8,91	24	14,01	44	11,14	64	9,23	84	11,78
5	15,92	25	11,14	45	9,87	65	10,50	85	10,19
6	6,05	26	10,50	46	11,46	66	10,82	86	12,41
7	12,73	27	12,10	47	11,78	67	8,59	87	9,87
8	10,50	28	14,64	48	12,41	68	7,96	88	13,05
9	14,32	29	13,05	49	12,10	69	8,91	89	13,05
10	11,46	30	12,73	50	10,50	70	12,41	90	15,60
11	10,82	31	11,46	51	10,50	71	7,32	91	10,50
12	8,28	32	11,14	52	5,41	72	10,82	92	12,73
13	17,83	33	13,68	53	15,60	73	12,41	93	13,05
14	12,41	34	13,05	54	8,59	74	4,46	94	14,01
15	18,78	35	14,96	55	9,87	75	11,78	95	10,50
16	16,23	36	13,05	56	9,87	76	16,23	96	11,14
17	13,05	37	10,50	57	14,96	77	6,68	97	12,10
18	13,05	38	12,10	58	9,23	78	14,96	98	3,50
19	7,00	39	9,55	59	12,10	79	13,37	99	4,46
20	9,55	40	13,05	60	14,64	80	9,23	100	4,77

Média = 11,30 cm

Variância = 8,33 cm<sup>2</sup>

Média = 14,00 cm e Variância = 2,30 cm<sup>2</sup>, relativos ao DAP de plantas de um clone colocado intercaladamente no plantio de *E. cloesiana*.

Esse valor significa que 72,39% da variação do diâmetro das árvores de eucalipto é de natureza genética.

Vejam agora de que modo essa estimativa pode auxiliar o melhorista de Eucalipto. Suponhamos que ele selecione, para propagação vegetativa, todas as árvores com mais de 15 cm de diâmetro, no caso as árvores de número 5 (15,92 cm); 13 (17,83 cm); 15 (18,78 cm); 16 (16,23 cm); 53 (15,60 cm); 76 (16,23 cm) e 90 (15,60 cm). Desse modo, a média das árvores selecionadas ( $M_s$ ), será:

$$M_s = \frac{15,92 + 17,83 + 18,78 + 16,23 + 15,60 + 16,23 + 16,23}{7} = 16,60 \text{ cm.}$$

Se apenas essas árvores forem utilizadas para propagação na etapa seguinte, qual deverá ser o diâmetro médio esperado das árvores na nova população, isto é, a média da população melhorada? Para responder a essas indagações, vamos considerar a Figura 12.5. Veja que a média da população original ( $M_o$ ) é 11,30 cm. A média da população melhorada ( $M_m$ ) será a média original mais o ganho esperado com a seleção (GS), ou seja,  $M_m = M_o + GS$ . Pode-se demonstrar que, nesse caso, o ganho esperado com a seleção poderá ser obtido pela expressão:

$$GS = h^2 ds$$

em que:  $ds$  é o diferencial de seleção, isto é, a superioridade dos indivíduos selecionados em relação a todos os indivíduos da população (Figura 12.5). Assim,  $ds = M_s - M_o$ . Nesse exemplo,  $ds = 16,60 - 11,30 = 5,30$  cm.

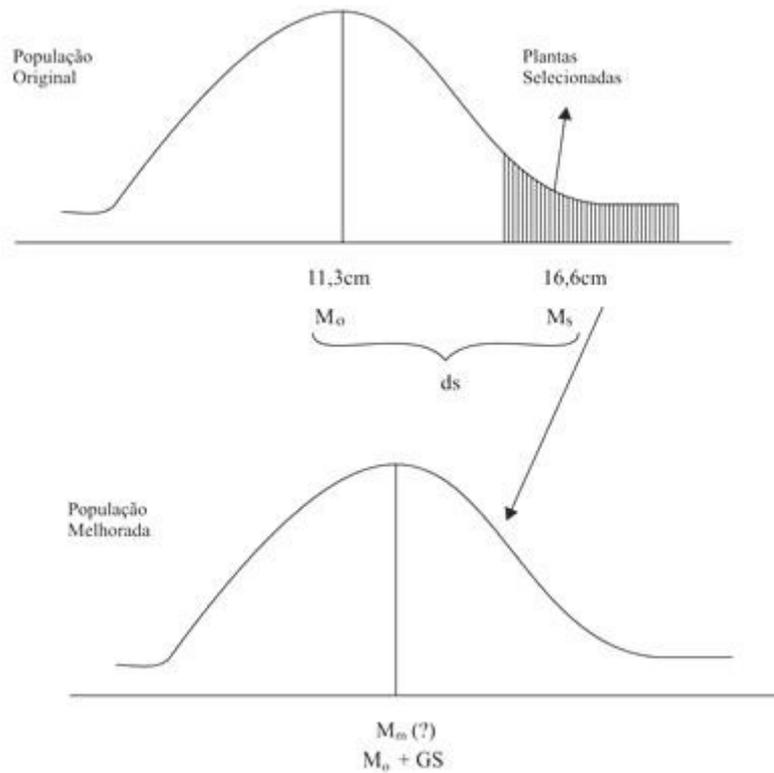
Depreende-se, desse modo, que o ganho esperado com a seleção deverá ser:

$GS = ds h^2 = 5,30 \times 0,7239 = 3,84$  cm. Se quisermos, poderemos estimar o ganho esperado com a seleção em percentagem, para ser comparável com outras situações:

$$GS\% = \frac{GS}{M_o} \times 100 = \frac{3,84}{11,30} \times 100 = 33,98\%$$

Como pode ser observado, pela expressão do ganho, a estimativa de  $h^2$  é uma indicação do sucesso do melhorista. Veja que quanto menor for a sua estimativa menor será a proporção do diferencial de seleção ( $ds$ ) que será transmitido aos descendentes. Se  $h^2$ , por exemplo, for zero, não existindo variação genética, a seleção será efetuada, mas não ocorrerá nenhum ganho, pois toda a diferença entre as árvores é ambiental. No outro extremo, se  $h^2$  for de 100%, toda a diferença entre as plantas é genética e como a propagação é vegetativa, ela será integralmente passada aos filhos, ou seja,  $M_m = M_s$ .

Nesse ponto, é relevante enfatizar que a  $h^2$  de um caráter não é uma estimativa imutável. Pelo contrário, ela varia com a variação genética presente e com o efeito do ambiente. É possível, desse modo, aumentar a estimativa de  $h^2$  utilizando população com maior variação genética e também realizando um efetivo controle do ambiente.



**FIGURA 12.5.** Efeito da seleção em uma população de plantas de eucalipto, em que foram selecionados todos os indivíduos com diâmetros superiores a 15 cm.  $M_0$  - média da população original;  $M_s$  - média dos indivíduos selecionados;  $M_m$  - média da população melhorada;  $ds$  - diferencial de seleção;  $GS$  - ganho esperado com a seleção.

É possível visualizar também que a eficiência da seleção pode ser incrementada por meio do diferencial de seleção ( $ds$ ). Quando nós selecionamos uma menor proporção de indivíduos mais extremos, isto é, usamos uma maior intensidade de seleção, o valor do diferencial de seleção é aumentado e, como consequência, também, o ganho com a seleção é incrementado. Uma questão que poderia ser levantada é por que não se utilizar sempre a máxima intensidade de seleção, ou seja, a escolha do melhor indivíduo. No presente caso, por exemplo, por que não selecionar apenas o indivíduo de número 15, o de maior diâmetro (18,78 cm)? A resposta a essa indagação pode ser dada considerando dois aspectos: o primeiro deles é que como a herdabilidade não é de 100%, esse indivíduo pode ter expressado o fenótipo extremo por ação do meio ambiente, não sendo o de melhor constituição genética; o segundo é que, normalmente, o melhorista realiza vários ciclos seletivos e, desse modo, seria exaurida a variabilidade genética sem possibilidade de sucesso nos ciclos seletivos subsequentes.

No exemplo apresentado anteriormente, foi considerada uma planta que é possível realizar a propagação assexuada. Nessa situação, toda a variação genética é transmitida à

descendência. O que ocorre, no entanto, quando a propagação é sexuada, por meio da meiose e, posteriormente, fusão dos gametas? Para exemplificar, vamos utilizar novamente os dados referentes ao peso dos grãos do feijoeiro apresentados na Tabela 12.1. As estimativas das variâncias obtidas para aquele experimento foram:

$$\begin{aligned}\hat{\sigma}_{P_1}^2 &= 482,76 & \hat{\sigma}_{F_2}^2 &= 2220,98 \\ \hat{\sigma}_{P_2}^2 &= 132,80 & \hat{\sigma}_{RC_1}^2 &= 2401,00 \\ \hat{\sigma}_{F_1}^2 &= 323,68 & \hat{\sigma}_{RC_2}^2 &= 831,76\end{aligned}$$

Como já foi comentado, a variância observada no  $P_1$ ,  $P_2$ , e  $F_1$  é toda ambiental, uma vez que todos os indivíduos dentro dessas populações apresentam o mesmo genótipo. As diferenças observadas nas estimativas da variância para o  $P_1$ ,  $P_2$  e  $F_1$  são decorrentes, principalmente, da amostragem. Dessa forma, pode-se estimar a variância ambiental ( $\sigma_E^2$ ) pela média das três variâncias dessas populações, ou seja:

$$\hat{\sigma}_E^2 = \frac{\hat{\sigma}_{P_1}^2 + \hat{\sigma}_{P_2}^2 + \hat{\sigma}_{F_1}^2}{3} = \frac{482,76 + 132,80 + 323,68}{3} = 313,08$$

A variância fenotípica da geração  $F_2$  ( $\sigma_{F_2}^2$ ) possui, evidentemente, dois componentes: o primeiro deles decorrente do efeito do ambiente, e o segundo, à segregação e recombinação dos genes que dão origem à variabilidade genética. Como o efeito ambiental da geração  $F_2$  pode ser considerado da mesma magnitude do observado para o  $P_1$ ,  $P_2$  e  $F_1$ , pode-se, assim, estimar a variância genética da geração  $F_2$  ( $\sigma_G^2$ ) da seguinte forma:

$$\hat{\sigma}_{F_2}^2 = \hat{\sigma}_G^2 + \hat{\sigma}_E^2$$

em que:

$\hat{\sigma}_{F_2}^2$  - variância fenotípica da geração  $F_2$

$\hat{\sigma}_E^2$  - variância ambiental média

$\hat{\sigma}_G^2$  - variância genética

No nosso exemplo, a  $\sigma_G^2$  será:

$$\hat{\sigma}_G^2 = \hat{\sigma}_{F_2}^2 - \hat{\sigma}_E^2 = 2220,98 - 313,08 = 1907,90$$

A variância genética, por sua vez, é composta pelo efeito aditivo e de dominância dos genes. Para verificar o que está contido na  $\sigma_G^2$  presente em uma população  $F_2$ , será novamente utilizado o esquema apresentado na Figura 12.2.

Como já foi comentado,  $\mu$  representa o ponto médio entre os dois genótipos homocigóticos;  $a$  mede o afastamento de cada genótipo homocigótico em relação à média;  $d$  mede o afastamento do heterocigoto em relação à média. Desconsiderando os efeitos ambientais para uma geração  $F_2$ , pode-se escrever:

Genótipos:	$B^1B^1$	$B^1B^2$	$B^2B^2$
Valor fenotípico:	$\mu + a$	$\mu + d$	$\mu - a$
Frequência:	1/4	1/2	1/4

A média da geração  $F_2$  ( $\bar{F}_2$ ) é, portanto,  $1/4 (\mu + a) + 1/2 (\mu + d) + 1/4 (\mu - a)$ , que, resolvendo, resulta em  $\bar{F}_2 = \mu + 1/2 d$ . Da estatística, sabemos que a variância é fornecida pela expressão:

$$\sigma^2 = \sum_{i=1}^n f_i (X_i - \bar{X})^2$$

no caso da  $F_2$ , tem-se então:  $\sigma_{G_{F_2}}^2 = 1/4 [\mu + a - (\mu + 1/2 d)]^2 + 1/2 [\mu + d - (\mu + 1/2 d)]^2 + 1/4 [\mu - a - (\mu + 1/2 d)]^2$ . Resolvendo, obtém-se:

$$\sigma_{G_{F_2}}^2 = \frac{1}{2} a^2 + \frac{1}{4} d^2$$

Quando se consideram todos os genes envolvidos no controle do caráter, tem-se:

$\sigma_{F_2}^2 = \frac{1}{2} \sum a^2 + \frac{1}{4} \sum d^2$ , substituindo  $\frac{1}{2} \sum a^2$  por  $\sigma_A^2$  e  $\frac{1}{4} \sum d^2$  por  $\sigma_D^2$ , tem-se:

$$\sigma_{G_{F_2}}^2 = \sigma_A^2 + \sigma_D^2$$

em que:

$\sigma_A^2$  é a variância genética aditiva

$\sigma_D^2$  é a variância genética de dominância

Utilizando-se raciocínio análogo, pode-se demonstrar que a soma das variâncias genéticas dos dois retrocruzamentos é fornecida por:  $\sigma_{RC_1}^2 + \sigma_{RC_2}^2 = \sigma_A^2 + 2\sigma_D^2$ .

Utilizando-se, assim, as estimativas da variância fenotípica da geração  $F_2$  e dos retrocruzamentos, é possível isolar os componentes da variância genética. Considerando o caso do peso das sementes do feijoeiro, tem-se:

$$\sigma_{F_2}^2 = 2220,98 = \sigma_A^2 + \sigma_D^2 + \sigma_E^2$$

$$(\sigma_{RC_1}^2 + \sigma_{RC_2}^2) = 2401,00 + 831,76 = 3232,76 = \sigma_A^2 + 2\sigma_D^2 + 2\sigma_E^2$$

$$\text{Sendo assim, } \sigma_A^2 = 2\sigma_{F_2}^2 - (\sigma_{RC_1}^2 + \sigma_{RC_2}^2) \quad \hat{\sigma}_A^2 = 1209,20$$

Como  $\hat{\sigma}_E^2 = 313,08$ , pode-se obter também a estimativa de  $\hat{\sigma}_D^2$  utilizando a  $\hat{\sigma}_{F_2}^2$ , isto é:

$$\hat{\sigma}_D^2 = \sigma_{F_2}^2 - \sigma_A^2 - \sigma_E^2 = 698,70$$

Nesse caso, pode-se estimar dois tipos de herdabilidade: herdabilidade no sentido amplo ( $h_a^2$ ), e herdabilidade no sentido restrito ( $h_r^2$ ). Esses dois tipos de  $h^2$  são obtidos a partir das expressões que utilizam a geração  $F_2$  como referência:

$$h_a^2 = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_{F_2}^2} \times 100 = \frac{\sigma_{F_2}^2 - \sigma_E^2}{\sigma_{F_2}^2} \times 100$$

$$h_r^2 = \frac{\sigma_A^2}{\sigma_{F_2}^2} \times 100 = \frac{2\sigma_{F_2}^2 - \sigma_{RC_1}^2 - \sigma_{RC_2}^2}{\sigma_{F_2}^2} \times 100$$

Como se observa, pelas expressões apresentadas, a diferença entre os dois tipos de herdabilidade é apenas no numerador das expressões. A herdabilidade no sentido restrito considera apenas a variância genética aditiva, aquela que é fixada pela seleção, sendo evidentemente, na maioria dos casos, a mais importante para os melhoristas. A estimativa da herdabilidade no sentido amplo, que envolve toda a variância genética -  $\sigma_A^2 + \sigma_D^2$  -, tem importância em caso de plantas que apresentam propagação vegetativa, como o caso visto anteriormente, isso porque, nessa situação, o genótipo é integralmente herdado.

A partir dos dados do peso das sementes do feijoeiro (Tabela 12.1), pode-se obter as duas estimativas da herdabilidade, ou seja:

$$\hat{h}_a^2 = \frac{\sigma_{F_2}^2 - \sigma_E^2}{\sigma_{F_2}^2} \times 100 = \frac{2220,98 - 313,08}{2220,98} \times 100 = 85,90\%$$

$$\hat{h}_r^2 = \frac{\sigma_A^2}{\sigma_{F_2}^2} \times 100 = \frac{2\sigma_{F_2}^2 - (\sigma_{RC_1}^2 + \sigma_{RC_2}^2)}{\sigma_{F_2}^2} \times 100 =$$

$$\hat{h}_r^2 = \frac{2 \times 2220,98 - (2401,00 + 831,76)}{2220,98} \times 100 = 54,44\%$$

Como se observa, há diferença entre as duas estimativas, isso porque na variância genética total presente na  $F_2$  existe uma certa proporção da variância de dominância, como já comentado.

Como já salientado, a herdabilidade não é apenas uma propriedade do caráter, mas também da população e das condições ambientais a que foram submetidos os indivíduos. Por exemplo, o valor da  $h^2$  indica que 54,44% da variação fenotípica do peso das sementes do feijoeiro é decorrente da variação genética aditiva. Porém, essa estimativa é válida para a população  $F_2$  utilizada e nas condições ambientais em que foram obtidos os dados. Com base no que foi mencionado, pode-se concluir que a herdabilidade, de uma certa característica, não é imutável. Na realidade, a  $h^2$  pode ser aumentada não somente pela introdução de mais variação genética na população, mas melhorando as condições experimentais, de modo a reduzir a contribuição da variação ambiental para a variação fenotípica total.

Apesar das diferenças que ocorrem nas herdabilidades de uma dada característica, as estimativas apresentadas na literatura mostram que cada caráter apresenta uma amplitude de valores da herdabilidade que lhe é peculiar. Assim é que características, tais como: produção de grãos de uma planta, produção de ovos nas aves e produção de leite nos bovinos são características muito influenciadas pelas condições ambientais e apresentam herdabilidades baixas, normalmente inferiores a 30%; outras características como peso das sementes, altura das plantas, peso do ovo são menos influenciadas pelo ambiente e apresentam, em consequência, herdabilidade mais elevada.

Uma das principais utilidades da herdabilidade, como já visto, é permitir que se estime o ganho com a seleção antes mesmo que ela seja realizada. Essa estimativa é muito importante porque permite, entre outras coisas, escolher o método de seleção que seja mais eficiente e também as alternativas para se conduzir o processo seletivo. Existem vários métodos de seleção, os quais não serão tratados aqui. Será considerada apenas mais uma situação para ilustrar a estimativa do ganho genético, considerando os dados do peso das sementes do feijoeiro (Tabela 12.1).

A seleção poderá ser realizada na geração  $F_2$ , uma vez que essa população apresenta variabilidade genética. Consideremos, por exemplo, que o objetivo seja obter uma nova população em que o peso médio dos grãos seja maior do que o da  $F_2$ . Nessa geração, o peso médio foi de 266 mg, e o intervalo de variação foi de 160 a 390 mg. Suponhamos que serão selecionadas todas as plantas cujo peso médio dos grãos seja de 350 mg ou mais. Assim, pode-se questionar: qual será o peso médio da nova população ( $M_m$ ) descendente dos indivíduos selecionados? Em outras palavras, qual será o progresso genético (GS)? Como serão selecionadas as plantas cujos pesos médios das sementes são maiores, evidentemente a nova população deverá ter um acréscimo em relação à média da população que será submetida à seleção ( $M_o$ ), ou seja:

$$M_m = M_o + GS$$

O que se deseja mostrar é a possibilidade de estimar GS antes que a seleção seja realizada. Nesse exemplo, serão selecionadas as plantas com peso médio das sementes igual ou superior a 350 mg. Assim, a média dos indivíduos selecionados -  $M_s$  - é:

$$M_s = \frac{(6 \times 350) + (2 \times 360) + (2 \times 370) + (1 \times 380) + (2 \times 390)}{13} = 363,08 \text{ mg}$$

E o diferencial de seleção é:

$$ds = M_s - M_o = 363,08 - 266,00 = 97,08 \text{ mg}$$

Sendo assim, o GS é:

$$GS = 0,5444 \times 97,08 = 52,85 \text{ mg}$$

E a média esperada da população melhorada é:

$$M_m = 266,00 + 52,85 = 318,85 \text{ mg}$$

Essa é a média esperada da nova população, se forem selecionados todos os indivíduos com peso médio dos grãos superior a 350 mg e se o material for cultivado em condições ambientais semelhantes às da população submetida à seleção. Pode-se estimar também o ganho percentual esperado, o que permite compará-lo com outras estimativas de ganho, ou seja:

$$GS\% = GS/M_o \times 100 = 19,86\%$$

### 12.5.3 Estimativa do Número de Genes

O conhecimento do número de genes envolvidos na expressão de um caráter é de grande importância no estudo da herança dos caracteres quantitativos e também no melhoramento de plantas e animais, principalmente no que se refere à estimativa de probabilidade de se obter determinado genótipo em uma população segregante.

Um dos modos para se estimar o número de genes envolvidos é por meio da frequência com que são recuperados os fenótipos extremos para a característica considerada na geração  $F_2$ . Na Tabela 12.15, encontram-se os valores que permitem obter a estimativa do número de genes envolvidos. Esse método, apesar da facilidade de aplicação, é, porém, de pouca utilidade quando cinco ou mais genes estão envolvidos, porque a partir daí a população segregante deve ser muito grande para que ocorra os tipos extremos. Por exemplo, com cinco genes, um dos fenótipos extremos ocorrerá com frequência de 1/1.024, já, com 10 genes, a fração cai para 1/1.048.576 e com 20 genes somente 1 em 1.099.511.627.776.

**TABELA 12.15.** Probabilidade de ocorrência, na geração  $F_2$ , de indivíduos manifestando a expressão extrema de um caráter quantitativo.

Número de genes	Número de alelos segregantes	Frequência com que é recuperado um dos fenótipos extremos na geração $F_2$
1	2	$(1/2)^2 = 1/4$
2	4	$(1/2)^4 = 1/16$
3	6	$(1/2)^6 = 1/64$
4	8	$(1/2)^8 = 1/256$
•	•	•
•	•	•
•	•	•
n	2n	$(1/2)^{2n}$

Além do fato de se ter de trabalhar com uma população muito grande, o principal agravante é o efeito do ambiente, que dificulta a identificação do genótipo desejado por intermédio do fenótipo. Como as evidências têm mostrado que para a maioria das características o número de genes envolvido é muito grande, e também muito influenciados pelo ambiente, a aplicação desse método não tem sido eficaz.

Para contornar essas dificuldades, o método proposto por Sewall Wright, que utiliza variâncias e médias, pode ser empregado. Por exemplo, considerando o modelo de um gene e dois alelos -  $B^1$  e  $B^2$  -, vimos (Figura 12.2) que a diferença entre os dois homozigotos corresponde a  $2a$ . Se estiverem envolvidos  $n$  genes de ação aditiva, essa diferença entre os homozigotos será igual a  $P_1 - P_2 = 2na$ . A variância genética estimada para a geração  $F_2$ , considerando apenas genes aditivos, é dada por

$$\sigma_{G_{F_2}}^2 = (1/2)na^2 \quad (1)$$

Obtendo-se o valor de  $a$  em função da diferença entre os homozigotos, e substituindo na expressão da variância teremos:

$$a = \frac{P_1 - P_2}{2n} \quad (2)$$

Substituindo (2) em (1), temos:

$$\sigma_{G_{F_2}}^2 = \frac{1}{2} n \left( \frac{\bar{P}_1 - \bar{P}_2}{2n} \right)^2$$

$$\sigma_{G_{F_2}}^2 = \frac{1}{8} \frac{(\bar{P}_1 - \bar{P}_2)^2}{n}$$

assim,

$$n = \frac{(\bar{P}_1 - \bar{P}_2)^2}{8\sigma_{G_{F_2}}^2}$$

em que:

n: número de genes controlando o caráter

$\bar{P}_1 - \bar{P}_2$  : diferença entre as médias dos genitores

$\sigma_{G_{F_2}}^2$  : variância genética da geração  $F_2$

Na aplicação dessa expressão, alguns requisitos são necessários:

- Os genitores devem ser homozigóticos e completamente contrastantes, ou seja, todos os alelos efetivos devem estar em um dos genitores e todos os não efetivos, no outro;
- Ausência de interação gênica;
- Todos os genes devem ter efeitos iguais e aditivos sobre a expressão fenotípica do caráter;
- Ausência de ligação.

No caso de não satisfeita algumas dessas condições, o número de genes envolvidos será subestimado.

Vejamos a aplicação dessa expressão aos dados apresentados na Tabela 12.1, referentes ao peso dos grãos do feijão.

$$\begin{array}{ll} \bar{P}_1 = 445mg & \sigma_{P_2}^2 = 132,80 \\ \bar{P}_2 = 179mg & \sigma_{F_1}^2 = 323,68 \\ \sigma_R^2 = 482,76 & \sigma_{F_2}^2 = 2220,98 \end{array}$$

Com base nesses dados, a estimativa do número de genes envolvidos no controle do caráter é:

$$n = \frac{(445 - 179)^2}{8 \times 1907,90} = 4,63 = 5 \text{ genes}$$

Esse número de genes está até certo ponto de acordo com a distribuição obtida para a geração  $F_2$  (Tabela 12.1). Veja que com a população  $F_2$  de 169 plantas, indivíduos com o fenótipo dos genitores não foram recuperados. Isso mostra, pelo menos, que devem estar envolvidos mais de três genes, e o número obtido pela expressão está coerente com essa afirmativa.

**BOX 12.5. ESTIMADOR PARA O NÚMERO DE GENES QUANDO OCORRE DOMINÂNCIA**

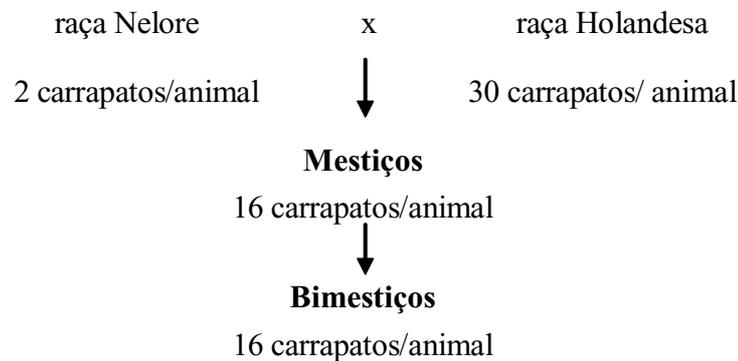
Quando a interação alélica dos diferentes genes que controlam o caráter é aditiva a expressão de Wright (1934) apresentada no item 12.5.3 possibilita estimar o número de genes. Na ocorrência de dominância Wright (1934) apresentou outro estimador para o

número de genes, ou seja:  $n = \left[ \frac{1/4(3/4 - \mu + \mu^2)D^2}{\sigma_{G_{F_2}}^2} \right]$  em que  $\mu = \left( \frac{F_1 - P_1}{P_2 - P_1} \right)$  e  $D = P_2 - P_1$ .

As mesmas pressuposições do estimador quando a interação alélica é aditiva (item 12.5.3) são válidas aqui. É também necessário que em todos os genes envolvidos o grau de dominância seja o mesmo. Não satisfeitas as suposições, a expressão fornece uma subestimativa do verdadeiro valor.

## PROBLEMAS PROPOSTOS

1. Na espécie de *Eucalyptus grandis*, a altura do fuste aos sete anos varia de 12,00 m a 20,00 m. Procurou-se determinar a herança desse caráter por meio do cruzamento de plantas de 12,00 m com plantas de 20,00 m, ambas puras, e obtiveram-se as gerações  $F_1$  e  $F_2$ . A altura média do fuste nessas duas gerações foi de 16,00 m. Na geração  $F_2$ , observou-se 0,4% de plantas com 12,00 m e 0,4% de plantas com 20,00 m, sendo que as demais plantas da  $F_2$  apresentaram alturas de fustes entre esses extremos. Desconsiderando o efeito ambiental e genes com efeitos iguais, determine:
  - a) Qual o número de genes que controla a altura do fuste?
  - b) Qual a contribuição de cada alelo efetivo? Quais os genótipos dos genitores e de  $F_1$ ? Qual a heterose da  $F_1$  e  $F_2$ ?
  - c) Quantas árvores com fuste igual ao da  $F_1$  ocorrem entre 20.000 plantas  $F_2$ ?
  - d) Quantas árvores com fuste de 18,00 m são esperadas entre 20.000 plantas  $F_2$ ?
  - e) Duas árvores puras com 16,00 m de fuste foram cruzadas e observou-se na  $F_2$  o mesmo resultado da  $F_2$  apresentado anteriormente. Quais são os genótipos das árvores genitoras?
  - f) Se na  $F_2$ , referida no item e, as árvores com fuste de 12,00m tivessem ocorrido na frequência de 0,024% cada uma, qual seria o número de genes e a contribuição de cada alelo efetivo?
  - g) Qual a sua conclusão quando se comparam os resultados dos itens a e b com o resultado do item f?
  
2. Considerando os resultados do problema 1 e a presença de dominância completa em todos os locos com efeitos iguais, pergunta-se:
  - a) Qual a contribuição de cada loco com alelo dominante e de cada loco homocigoto recessivo?
  - b) Considerando o cruzamento ( $P_1$ ) AAbbccDD x ( $P_2$ ) aaBBCCdd, qual a altura do fuste de  $P_1$ ,  $P_2$  e  $F_1$  e o número de fenótipos esperados na  $F_2$  com a respectiva amplitude de variação?
  - c) Qual a heterose das gerações  $F_1$  e  $F_2$ ?
  
3. A partir do cruzamento de animais da raça Nelore com os da raça Holandesa, foram obtidos os seguintes resultados para o número de carrapatos/animal:



Observou-se que entre os 2.000 descendentes bimestiços, apenas 2 apresentaram 3 ou menos carrapatos/animal e que também 2 mostraram cerca de 30 carrapatos/animal. Desconsiderando o efeito do ambiente na expressão do caráter, pede-se:

- a) Qual o tipo de interação gênica está envolvido no controle desse caráter?
  - b) Qual o número de genes que controla o caráter?
  - c) Qual a contribuição de cada alelo efetivo? Quais os genótipos dos genitores e dos mestiços?
  - d) Identifique todos os fenótipos possíveis entre os bimestiços colocando a frequência de cada um deles.
  - e) Quantos animais com o mesmo número de carrapatos dos mestiços ocorrem entre os 2000 descendentes?
4. Considerando que a produção de leite em bovinos seja controlada por 10 genes - na realidade esse número deve ser bem maior -, qual seria o número mínimo de descendentes necessários na geração  $F_2$  para se obter 20 fêmeas com a máxima produção, a partir do seguinte cruzamento e considerando que ocorre apenas interação aditiva?

Touros	x	Vacas
<b>AABBccddeeFFgghhIiJj</b>		<b>aabbCCDDEEfgGHHiiJJ</b>

5. Em frangos de corte, uma linhagem **A** apresenta ganho de peso diário de 30g, enquanto a linhagem **B** possui ganho de 50 g/dia. Se a diferença dos ganhos de peso se deve a 8 genes de efeitos iguais, pergunta-se:
- a) Qual a proporção de cada fenótipo na geração  $F_2$  proveniente do cruzamento das duas linhagens, admitindo que a interação alélica seja somente aditiva?
  - b) Qual seria a resposta do item a se a interação alélica fosse somente de dominância?

- c) Represente graficamente as distribuições fenotípicas da geração  $F_2$  para os dois tipos de interações alélicas.
6. Suponha que a produtividade de grãos em arroz seja decorrente de 6 genes aditivos e o teor de proteína do grão decorrente de 4 genes também aditivos. Considere o cruzamento de uma cultivar **A** com a máxima produtividade e o menor teor de proteína, com outra **B** que apresenta a mínima produtividade, porém, com o maior teor de proteína conhecido.
- a) A partir desse cruzamento, qual a proporção esperada de plantas na  $F_2$  com os maiores valores para a produtividade de grãos e teor de proteína?
- b) Qual seria essa proporção, se a produtividade de grãos fosse decorrente de 60 genes e o teor de proteína decorrente de 40 genes?
- c) Quais as implicações das respostas dos itens a e b para o melhorista?
- d) Qual o número de linhagens é esperado quando for atingida a homozigose completa, isto é, após sucessivas gerações de autofecundação, considerando 10 genes no controle de ambos os caracteres?
7. No estudo da herança da porcentagem do conteúdo de óleo da semente de girassol, foram obtidos os seguintes resultados por Fick, 1975 (Crop Science 15, 77-78).

População	Número de indivíduos	Média	Variância
P-21 VR 1 ( $P_1$ )	30	39,5	8,10
MENN RR-18-1 ( $P_2$ )	30	27,7	4,34
$F_1$	21	34,7	3,83
$F_2$	145	33,4	21,43
$RC_1$	107	38,6	13,45
$RC_2$	81	35,0	16,43

- a) Por que a variância da geração  $F_2$  é a maior de todas?
- b) Por que as variâncias dos retrocruzamentos são de valores intermediários?
- c) Qual o tipo de ação gênica predominante?
- d) Qual o provável número de genes envolvidos no controle do caráter?
8. Utilizando os dados do problema 7, estime:
- a) Herdabilidade no sentido amplo;
- b) Herdabilidade no sentido restrito;

- c) O ganho esperado com a seleção entre plantas da geração  $F_2$  considerando que foram selecionados indivíduos cuja média do conteúdo de óleo na semente foi de 38%;
- d) Por que a média da população melhorada é menor do que a média dos indivíduos selecionados?

9. O peso final de abate aos 33 meses para novilhos das raças Santa Gertrudis e Hereford e de seu mestiço estão apresentados no quadro a seguir:

Raças	Peso (kg)
Santa Gertrudis (SG)	175,34
Mestiço (SG x H)	216,67
Hereford (H)	177,89

- a) Qual será o peso médio esperado em animais bimestiços?
- b) Se um melhorista desejasse fazer seleção de animais visando à obtenção de rebanhos com maior peso de abate aos 33 meses, o que seria preferível, partir do plantel mestiço ou bimestiço? Justifique.
- c) Quais cruzamentos deveriam ser realizados para se obter plantéis (3/4 H, 1/4 SG); (5/8 H, 3/8 SG); e (7/8 H, 1/8 SG)?
- d) Quais seriam os pesos médios esperados para os animais desses plantéis?

10. A capacidade de expansão no milho de pipoca é uma medida dada pela relação entre o volume da pipoca expandida e o volume de grãos. Em um trabalho realizado pelo Dr. Eduardo Sawazaki, no Instituto Agrônomo de Campinas foram cruzadas, duas a duas, 6 variedades de milho de pipoca e avaliada a capacidade de expansão dos híbridos e das respectivas variedades. Os resultados obtidos foram os seguintes:

Variedades	$V_1$	$V_2$	$V_3$	$V_4$	$V_5$	$V_6$
$V_1$	21,7	26,6	26,8	28,2	25,1	22,0
$V_2$		28,3	28,6	28,9	28,7	26,2
$V_3$			28,9	28,5	27,4	27,4
$V_4$				27,1	29,7	28,5
$V_5$					25,6	27,9
$V_6$						18,8

- a) Estimar a heterose dos híbridos  $V_4 \times V_5$  e  $V_5 \times V_6$ .
- b) Qual a média esperada para a geração  $F_2$  desses híbridos?
- c) Qual a explicação genética para a ocorrência da heterose?

- d) Estime a média da geração  $F_1$  e  $F_2$  dos híbridos triplos  $(V_1 \times V_2) \times V_3$  e  $(V_4 \times V_5) \times V_3$ .  
 e) Estime a média das gerações  $F_1$  e  $F_2$  do híbrido duplo  $(V_1 \times V_2) (V_5 \times V_6)$ .

11. Seis linhagens de milho foram inter cruzadas e obtiveram-se quinze híbridos. As produções médias de grãos (t/ha) de cada híbrido simples e de cada linhagem obtida em experimento apropriado foram as seguintes:

Linhagens	A	B	C	D	E	F
A	1,40	7,12	6,35	4,50	6,14	4,95
B		1,26	6,80	5,20	6,85	5,40
C			1,35	5,80	6,40	5,60
D				1,70	5,95	4,40
E					1,30	6,20
F						1,55

- a) Qual o número de híbridos duplos possíveis de serem sintetizados a partir dessas seis linhagens?  
 b) Quais os híbridos simples que devem ser inter cruzados para a obtenção do melhor híbrido duplo?  
 c) Se o agricultor utilizar as sementes  $F_2$ , provenientes desse melhor híbrido duplo, qual será a redução esperada na produção? Por que ocorre essa redução?  
 d) Considerando o item c, quantas vezes o custo da semente híbrida deve ser maior que o custo do grão produzido, para compensar a utilização da semente do paiol? Considere um gasto de 20 kg de semente por hectare.

12. Cinco linhagens de aves de corte de uma empresa de melhoramento foram cruzadas duas a duas em todas as combinações, sendo obtido os resultados dos pesos dos animais (g/animal) aos 50 dias apresentados a seguir:

Linhagens	A	B	C	D	E
A	1,3	2,4	2,8	2,0	1,8
B		1,0	2,0	2,3	1,6
C			0,9	2,2	1,8
D				1,4	1,7
E					1,6

Pede-se:

- a) Qual é o número possível de híbridos duplos com essas linhagens?  
 b) Quais linhagens devem ser cruzadas para se obter o melhor híbrido duplo?

# 13 GENÉTICA DE POPULAÇÕES

## 13.1 INTRODUÇÃO

A genética de populações é um ramo da genética de capital importância porque fornece subsídios para o melhoramento das populações de plantas e animais e, ainda, as bases necessárias à compreensão de como se processa a evolução. Os princípios mendelianos continuam sendo válidos, porém o que nos interessa agora é como avaliar as propriedades genéticas em grupos de indivíduos ou populações. Isto é, nos tópicos anteriores, os cruzamentos eram sempre direcionados no sentido de produzir gerações  $F_1$ ,  $F_2$ , etc, ao passo que nesse tópico o estudo das propriedades genéticas de uma população é baseado no comportamento de uma amostra aleatória de indivíduos, ou seja, a genética de populações estuda os mecanismos da hereditariedade em nível populacional.

Para maior clareza, é necessário conceituar o que vem a ser uma população sob o ponto de vista do geneticista: **população** é um conjunto de indivíduos da mesma espécie, que ocupa o mesmo local, apresenta uma continuidade no tempo e cujos indivíduos possuem a capacidade de se acasalarem ao acaso e, portanto, de trocar alelos entre si. Variedades de plantas alógamas, como a cebola ou o milho, por exemplo, que apresentam polinização aberta, ao acaso, enquadram-se, perfeitamente bem, dentro do que é denominado de população pelo geneticista, ou seja, são grupos de indivíduos - plantas que são cultivados no mesmo local e que, em decorrência da sua forma de polinização, permitem que os cruzamentos ocorram inteiramente ao acaso. Do mesmo modo, animais que se cruzam livremente também formam populações. Toda população tem um reservatório gênico que lhe é particular e que o caracteriza. Este é transmitido por intermédio das gerações. Além disso, é fácil visualizar que em uma população, o indivíduo tem uma importância transitória; o que, interessa mesmo são os alelos que ele possui e que serão transmitidos para as gerações seguintes.

## 13.2 FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS

As propriedades genéticas das populações são determinadas a partir do conhecimento de suas frequências alélicas e genotípicas. As **frequências alélicas** correspondem às proporções dos diferentes alelos de um determinado gene na população. As **frequências**

**genotípicas**, por sua vez, são as proporções dos diferentes genótipos para o gene considerado.

Para estimar as frequências alélicas e genotípicas, vamos utilizar, como exemplo, uma população de plantas de cebola e considerar o caráter cor dos bulbos que pode ser branca, amarela ou creme. Esse caráter é controlado por um gene com dois alelos apresentando dominância incompleta, ou seja, o genótipo  $\mathbf{B}^1\mathbf{B}^1$  condiciona bulbo branco;  $\mathbf{B}^1\mathbf{B}^2$ , bulbo creme; e  $\mathbf{B}^2\mathbf{B}^2$  bulbo amarelo. Suponhamos que em um determinado campo existam distribuídas ao acaso 2.000 plantas, sendo 100 de bulbos brancos, 1.000 de bulbos creme e 900 de bulbos amarelos.

Sendo assim, podemos escrever que:

- 100 plantas de bulbos brancos -  $n_1$  número de genótipos  $\mathbf{B}^1\mathbf{B}^1$
- 1.000 plantas de bulbos cremes -  $n_2$  número de genótipos  $\mathbf{B}^1\mathbf{B}^2$
- 900 plantas de bulbos amarelos -  $n_3$  número de genótipos  $\mathbf{B}^2\mathbf{B}^2$

De tal forma que  $n_1 + n_2 + n_3 = N$  (número total de indivíduos da população considerada). A frequência genotípica é, então, obtida da seguinte forma:

$$\text{Frequência do genótipo } \mathbf{B}^1\mathbf{B}^1 = D = \frac{n_1}{N} = \frac{100}{2.000} = 0,05$$

$$\text{Frequência do genótipo } \mathbf{B}^1\mathbf{B}^2 = H = \frac{n_2}{N} = \frac{1.000}{2.000} = 0,50$$

$$\text{Frequência do genótipo } \mathbf{B}^2\mathbf{B}^2 = R = \frac{n_3}{N} = \frac{900}{2.000} = 0,45$$

De modo que  $D + H + R = 1,0$

A partir desses dados, podemos determinar a frequência do alelo  $\mathbf{B}^1$ , que será representada por  $p$ , e a frequência do alelo  $\mathbf{B}^2$ , representada por  $q$ , sendo  $p + q = 1,0$ . Pelo que foi apresentado, pode-se escrever que:

$$\text{Frequência do alelo } \mathbf{B}^1 = p = \frac{2n_1 + n_2}{2N} = \frac{n_1 + \frac{1}{2}n_2}{N} = D + \frac{1}{2}H$$

$$\text{Frequência do alelo } \mathbf{B}^2 = q = \frac{2n_3 + n_2}{2N} = \frac{n_3 + \frac{1}{2}n_2}{N} = R + \frac{1}{2}H$$

Isto é, a frequência de um certo alelo é estimada pela frequência dos indivíduos homocigotos mais a metade dos indivíduos heterocigotos para o alelo em questão.

É fácil entender o porque dessas expressões. No indivíduo homocigótico  $B^1B^1$ , existem dois alelos  $B^1$ , daí o número de indivíduos com esse genótipo ter sido multiplicado por 2. No heterocigoto  $B^1B^2$ , só a metade dos alelos é  $B^1$ ; portanto, é multiplicado por um. A divisão por  $2N$  é porque esta espécie é diplóide e o número total de alelos é duas vezes o número de indivíduos envolvidos. No exemplo em pauta tem-se:

$$\text{Frequência do alelo } B^1 = p = \frac{2 \times 100 + 1.000}{2 \times 2.000} = \frac{100 + 500}{2.000} = 0,3$$

$$\text{Frequência do alelo } B^2 = q = \frac{2 \times 900 + 1.000}{2 \times 2.000} = \frac{900 + 500}{2.000} = 0,7$$

### 13.3 EQUILÍBRIO GENOTÍPICO DAS POPULAÇÕES

Vimos que as propriedades genéticas de uma população são definidas pelas suas frequências alélicas e genotípicas. Contudo, a seguinte pergunta pode ser formulada: o que ocorre com essas frequências com as sucessivas gerações de acasalamentos ao acaso? Para responder a essa questão, vamos considerar a população de cebolas referida anteriormente, que apresenta as seguintes frequências alélicas e genotípicas.

	Alelos		Genótipos		
	$B^1$	$B^2$	$B^1B^1$	$B^1B^2$	$B^2B^2$
Frequências	$p$	$q$	$D$	$H$	$R$

Daí podemos afirmar que são produzidos apenas dois tipos de gametas, aqueles com o alelo  $B^1$  e aqueles com o alelo  $B^2$ . O resultado do acasalamento ao acaso irá depender da união aleatória desses gametas, produzindo a frequência genotípica apresentada na Tabela 13.1.

**TABELA 13.1.** Frequências genotípicas, resultantes da união aleatória dos gametas, contendo os alelos  $B^1$  e  $B^2$  nas frequências  $p$  e  $q$ .

	GAMETAS (Frequências)		
	Masculinos	Femininos	
	$B^1$ ( $p$ )	$B^1$ ( $p$ )	$B^2$ ( $q$ )
$B^1$ ( $p$ )	$B^1B^1$ ( $p^2$ )	$B^1B^1$ ( $p^2$ )	$B^1B^2$ ( $pq$ )
$B^2$ ( $q$ )	$B^1B^2$ ( $pq$ )	$B^1B^2$ ( $pq$ )	$B^2B^2$ ( $q^2$ )
Genótipos:	$B^1B^1$	$B^1B^2$	$B^2B^2$
Frequências:	$p^2$	$2pq$	$q^2$

A partir dessas frequências genotípicas, é possível estimar as novas frequências alélicas, ou seja: a frequência do alelo  $B^1 = p_1$  é obtida, como já foi apresentado, pela seguinte expressão:

$$p_1 = D + 1/2H = p^2 + 1/2 (2 pq) = p^2 + pq = p (p + q) = p$$

Isto é, a nova frequência alélica - ( $p_1$ ) é igual à frequência alélica da geração anterior ( $p$ ). O mesmo ocorre para a frequência do alelo  $B^2$ , isto é,  $q_1 = q$ .

Sendo assim, nas sucessivas gerações de acasalamentos ao acaso, a frequência alélica deverá ser a mesma e, evidentemente, a frequência genotípica também não será alterada.

Esse fenômeno foi inicialmente demonstrado, independentemente, por Hardy e Weinberg, em 1908, e ficou conhecido como **Equilíbrio de Hardy-Weinberg**, que pode ser enunciado do seguinte modo: “Em uma população grande, que se reproduz por acasalamentos ao acaso e onde não há migração, mutação ou seleção, pois todos os indivíduos são igualmente férteis e viáveis, tanto as frequências alélicas como genotípicas se mantêm constantes ao longo das gerações”. Vejamos como isso funciona na prática. Voltemos ao exemplo da cor dos bulbos da cebola. Se for considerado que o agricultor colheu o mesmo número de sementes de cada uma das plantas e as semeou no ano seguinte, qual será a proporção de cada um dos tipos de bulbos nesse novo plantio? Foi dito que no campo existiam 2.000 plantas, sendo 100 de bulbos brancos (5%), 1.000 creme (50%) e 900 amarelos (45%). A frequência alélica estimada foi  $p (B^1) = 0,3$  e  $q (B^2) = 0,7$ . Pelo que foi comentado, se não há seleção, mutação e migração, esta frequência alélica não se alterará com as sucessivas gerações, e a nova frequência genotípica deverá ser:

Genótipos	Freq. Genotípicas
$B^1B^1$	$p^2 = (0,3)^2 = 0,09$
$B^1B^2$	$2pq = 2(0,3 \times 0,7) = 0,42$
$B^2B^2$	$q^2 = (0,7)^2 = 0,49$

Isto é, se o agricultor obtiver uma nova lavoura com 2.000 plantas, ele deverá ter 180 plantas com bulbos brancos, 840 com bulbos cremes e 980 com bulbos amarelos. A partir desse plantio, a proporção esperada deverá ser sempre a mesma. Embora tenhamos demonstrado o estabelecimento do equilíbrio empregando apenas um gene, devemos enfatizar que, se vários locos estiverem envolvidos, o equilíbrio também é atingido, porém será necessário um maior número de gerações para que isso ocorra. Esse equilíbrio, envolvendo dois ou mais genes, é denominado de equilíbrio de ligação.

### 13.4 TESTE DE EQUILÍBRIO DE HARDY-WEINBERG

Para testar se uma população se encontra em equilíbrio de Hardy-Weinberg, utiliza-se o teste de  $\chi^2$  (Capítulo 7). Nesse caso, as frequências genotípicas esperadas são obtidas, admitindo-se que a população esteja em equilíbrio, ou seja, as frequências genotípicas são dadas por  $p^2$ ,  $2pq$  e  $q^2$ . Se o  $\chi^2$  calculado for significativo a população considerada não se encontra em equilíbrio. Se, por outro lado, o valor de  $\chi^2$  calculado for não significativo conclui-se que os desvios das frequências genotípicas observadas não diferem significativamente das frequências genotípicas de uma população em equilíbrio. Voltando ao exemplo da população de cebola, temos a seguinte situação (Tabela 13.2).

**TABELA 13.2.** Teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Genótipos	Frequências fenotípicas	
	Observadas	Esperadas
B <sup>1</sup> B <sup>1</sup>	100	$(0,3)^2 \times 2.000 = 180$
B <sup>1</sup> B <sup>2</sup>	1.000	$(2 \times 0,3 \times 0,7) \times 2.000 = 840$
B <sup>2</sup> B <sup>2</sup>	900	$(0,7)^2 \times 2.000 = 980$
Total	2.000	

Como o valor de  $\chi^2_c = 72,56$  é maior que o  $\chi^2_t$ , conclui-se que a população inicial, composta por 100 plantas de bulbos brancos, 1.000 plantas de bulbos cremes e 900 plantas de bulbos amarelos, não se encontrava em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Nota-se, porém, que uma única geração de acasalamentos ao acaso seria necessária para a população entrar em equilíbrio, com frequências genotípicas  $p^2$ ,  $2pq$  e  $q^2$ .

### 13.5. ESTIMATIVA DAS FREQUÊNCIAS ALÉLICAS COM DOMINÂNCIA COMPLETA

Até agora foi considerado um exemplo com dominância incompleta. O que ocorre quando há dominância completa? Na realidade, as frequências, tanto alélicas como genotípicas das populações em equilíbrio, independem do tipo de interação alélica. Havendo dominância completa e a população estando em equilíbrio, as frequências alélicas poderão ser determinadas a partir da frequência do fenótipo recessivo, que equivale à frequência do genótipo homocigótico recessivo - ( $q^2$ ) -, ou seja, a frequência do alelo recessivo - ( $q$ ) - deverá ser a raiz quadrada da frequência do genótipo homocigótico recessivo. Seja, por exemplo, uma população de 1.000 plantas de milho em equilíbrio que possua 190 plantas normais e 810 plantas braquíticas, em decorrência do alelo recessivo **br**<sub>2</sub>. A partir dessa informação, é possível determinar as frequências alélicas e genotípicas da população, ou seja:

$$\text{Frequência do genótipo braquítico, } \mathbf{br}_2 \mathbf{br}_2 = \frac{810}{1000} = 0,81 = q^2;$$

$$\text{Frequência do alelo } \mathbf{br}_2 = q = \sqrt{q^2} = \sqrt{0,81} = 0,90;$$

$$\text{Frequência do alelo } \mathbf{Br}_2 = p = 1 - q = 0,10;$$

$$\text{Frequência do genótipo } \mathbf{Br}_2 \mathbf{Br}_2 = p^2 = (0,10)^2 = 0,01$$

$$\text{Frequência do genótipo } \mathbf{Br}_2 \mathbf{br}_2 = 2pq = 2 \times 0,10 \times 0,90 = 0,18$$

O conhecimento de que as populações atingem o equilíbrio e, a partir daí, não há alterações nas frequências alélicas e genotípicas, serve para explicar o porquê de quando o agricultor utiliza uma variedade de polinização livre, como o milho, por exemplo, ele não precisa comprar sementes todos os anos, desde que ele tenha o cuidado de plantar esse material isolado de outra variedade ou híbrido de milho e tomar a cada ano uma amostra representativa da população do ano anterior. Isso ocorre, porque a variedade já está em equilíbrio, não havendo alteração nas frequências genotípicas e, portanto, o comportamento do material não se altera.

## 13.6 FATORES QUE ALTERAM AS FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DE UMA POPULAÇÃO

Vimos que uma grande população, acasalando-se ao acaso, é estável com respeito às frequências alélicas e genotípicas, na ausência de agentes, tendendo a modificar suas propriedades genéticas. Agora iremos discutir quais são esses agentes e como eles atuam. Existem dois tipos de processos que atuam alterando as frequências alélicas. São eles:

- **Processos sistemáticos:** que tendem a modificar as frequências alélicas de uma maneira previsível, tanto em quantidade como em direção. Entre os processos sistemáticos estão a seleção, a migração e a mutação;

- **Processo dispersivo:** que ocorre em pequenas populações pelo efeito de amostragem, sendo previsível em quantidade, mas não em direção.

### 13.6.1 Seleção

A seleção pode ser definida como a eliminação de determinados genótipos da população. Em razão dessa eliminação, há alterações nas frequências alélicas e genotípicas e, em consequência, a população afasta-se do equilíbrio. A seleção pode ser natural ou artificial. A seleção natural será tratada no Capítulo 15. Aqui será comentado apenas que ela se fundamenta

no fato de que os indivíduos diferem em viabilidade e fertilidade e, por isso, contribuem com números diferentes de descendentes para a próxima geração, sendo preservados os indivíduos que deixam o maior número de descendentes. A seleção artificial, realizada pelo homem, tem, como objetivo principal, o melhoramento genético das populações, sendo selecionados os indivíduos que mais atendem às necessidades humanas. Os aspectos que serão comentados a seguir independem de ser a seleção natural ou artificial.

O efeito da seleção nas populações depende do tipo de interação alélica e do coeficiente de seleção. Com relação à interação alélica, vamos considerar aqui apenas o caso da dominância completa, sendo desvantajoso o alelo recessivo. Também será considerado apenas um único coeficiente de seleção, ou seja, todos os indivíduos portadores do genótipo homocigótico recessivo serão eliminados.

Consideremos, por exemplo, uma população de milho com os alelos  $\mathbf{Br}_2$  (planta normal) e  $\mathbf{br}_2$  (planta braquítica). Estando a população em equilíbrio, pode-se escrever que as frequências dos alelos  $\mathbf{Br}_2$  e  $\mathbf{br}_2$  são  $p_0$  e  $q_0$ , respectivamente. A frequência dos genótipos  $\mathbf{Br}_2\mathbf{Br}_2$ ,  $\mathbf{Br}_2\mathbf{br}_2$  e  $\mathbf{br}_2\mathbf{br}_2$  é fornecida por  $p_0^2$ ,  $2p_0q_0$  e  $q_0^2$ , respectivamente. Se o melhorista eliminar todas as plantas braquíticas, o que irá ocorrer com essa população com relação às frequências alélicas e genotípicas?

Eliminando todas as plantas  $\mathbf{br}_2\mathbf{br}_2$ , deverão ficar apenas as plantas  $\mathbf{Br}_2\mathbf{Br}_2$  e  $\mathbf{Br}_2\mathbf{br}_2$ . O alelo  $\mathbf{br}_2$  não é eliminado completamente da população, porque ele fica “encoberto” no heterocigoto. Como há seleção, devem ocorrer alterações nas frequências alélicas e, para se estimarem as novas frequências,  $p_1$  e  $q_1$ , utilizam-se dos dados apresentados no Tabela 13.3.

**TABELA 13.3.** Estimativa das frequências alélicas após um ciclo de seleção em uma população em equilíbrio.

Genótipos	Frequências genotípicas		Frequências alélicas
	Antes da Seleção	Após a Seleção	
$\mathbf{Br}_2\mathbf{Br}_2$	$p_0^2$	$p_0^2$	$p_1 = \frac{p_0^2 + p_0q_0}{p_0^2 + 2p_0q_0} = \frac{1}{1 + q_0}$
$\mathbf{Br}_2\mathbf{br}_2$	$2p_0q_0$	$2p_0q_0$	
$\mathbf{br}_2\mathbf{br}_2$	$q_0^2$	0	$q_1 = \frac{p_0q_0}{p_0^2 + 2p_0q_0} = \frac{q_0}{1 + q_0}$
Totais	1	$p_0^2 + 2p_0q_0$	

Pode-se demonstrar também que após  $t$  gerações de seleção, nessa população, a frequência do alelo  $\mathbf{br}_2$  é obtida por:

$$q_t = \frac{q_0}{1 + tq_0} \text{ em que } t \text{ é o número de gerações de seleção realizadas.}$$

Utilizando-se a mesma população de milho apresentada anteriormente, em que a frequência do alelo  $\mathbf{Br}_2$  ( $p_0$ ) é 0,10 e do alelo  $\mathbf{br}_2$  ( $q_0$ ) é 0,90, pergunta-se: a) Qual a frequência do alelo  $\mathbf{br}_2$  ( $q_t$ ) na população proveniente da eliminação de todas as plantas contendo o genótipo  $\mathbf{br}_2\mathbf{br}_2$ ? b) Qual o número de ciclos de seleção que será necessário para obter uma população com a frequência do alelo  $\mathbf{br}_2 = 0,10$ ? c) Qual a estimativa da alteração na frequência alélica nos vários ciclos seletivos até atingir a frequência do alelo  $\mathbf{br}_2 = 0,10$ ?

Por meio de expressões já apresentadas, pode-se responder a essas questões do seguinte modo: frequência do alelo  $\mathbf{br}_2$  ( $q_t$ ) após a seleção será  $\frac{q_0}{1 + tq_0} = \frac{0,90}{1 + 0,90} = 0,4737$ ; ou seja, pela eliminação de todas as plantas com o genótipo  $\mathbf{br}_2\mathbf{br}_2$  na população, a frequência do alelo  $\mathbf{br}_2$  é reduzida de 0,90 para 0,4737.

O número de ciclos de seleção para passar a frequência do alelo  $\mathbf{br}_2$  de 0,90 para 0,10 pode ser obtido a partir da expressão,  $q_t = \frac{q_0}{1 + tq_0}$  cujo desenvolvimento resulta em:

$$t = \frac{1}{q_t} - \frac{1}{q_0}$$

No exemplo em pauta,  $q_t = 0,10$  e  $q_0 = 0,90$ . Substituindo esses valores na expressão, obtém-se  $t = 8,9$  indicando que após aproximadamente 9 ciclos seletivos a frequência do alelo,  $\mathbf{br}_2$  passaria de 0,90 para 0,10.

A mudança na frequência alélica -  $\Delta q$  - é dada pela diferença entre a nova frequência e a frequência na geração anterior, ou seja:

$$\Delta q = q_t - q_{t-1}$$

Assim, substituindo  $q_t$  por  $q_1$  e  $q_{t-1}$  por  $q_0$ , teremos  $\Delta q = q_1 - q_0$ . Como  $q_1 = \frac{q_0}{1 + q_0}$ , pode-se obter a expressão:

$$\Delta q = \frac{q_0}{1 + q_0} - q_0 = -\frac{q_0^2}{1 + q_0}$$

Veja que o sinal negativo indica que a seleção é contra o alelo recessivo  $\mathbf{br}_2$ , que evidentemente terá sua frequência reduzida a cada ciclo.

No exemplo, a alteração no primeiro ciclo de seleção foi de -0,4263 (0,4737 - 0,90). Esse valor em termos percentuais corresponde a uma redução de 47,4% da frequência alélica original. Dessa forma, pode-se dizer que o ganho no primeiro ciclo seletivo foi de 47,4%.

Na Tabela 13.4, estão apresentados os valores das frequências e ganhos esperados após nove ciclos seletivos. Observa-se que à medida que a frequência do alelo desfavorável é reduzida, o ganho com a seleção é também menor.

A seleção reduz a frequência do alelo indesejável e, conseqüentemente, eleva a frequência do alelo favorável. Quando a frequência do alelo desfavorável é alta, ocorrem muitos indivíduos com o genótipo homozigoto recessivo na população. A frequência desse genótipo vai sendo reduzida gradativamente, com os ciclos de seleção, porém, é mais rápida nas gerações iniciais (Figura 13.1).

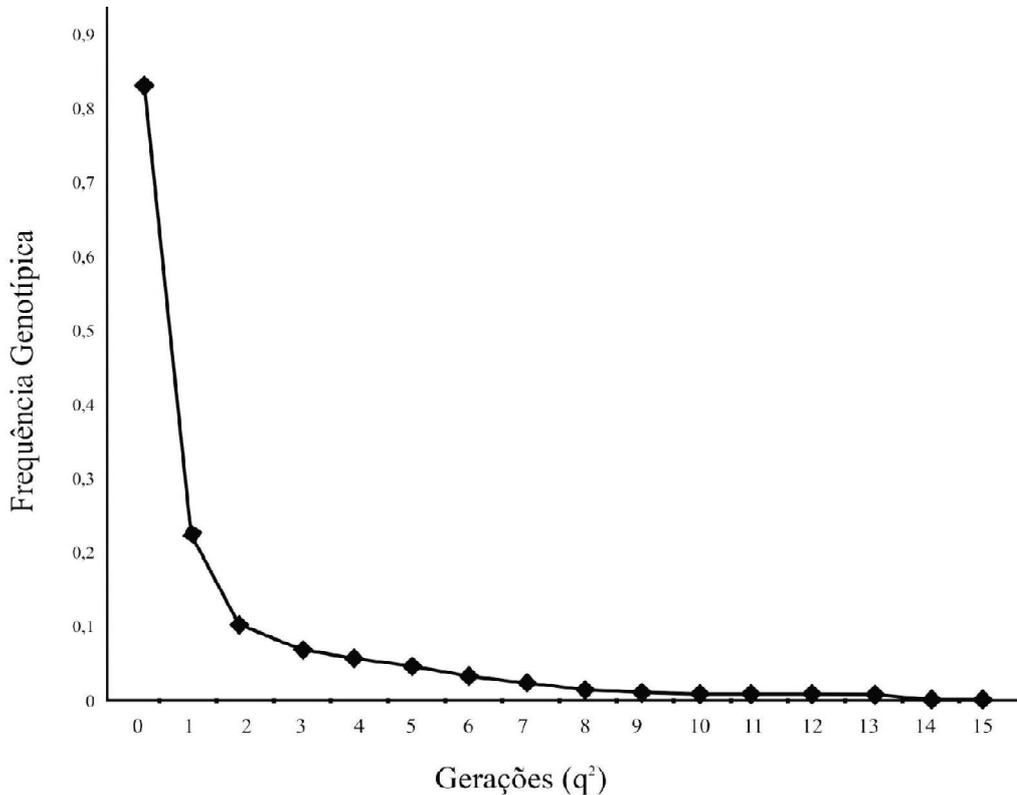
É necessário salientar que, no exemplo considerado, o caráter é controlado por apenas um gene, com um efeito marcante no fenótipo. Quando se realiza a seleção em um caráter quantitativo, controlado por um grande número de genes, todos eles sofrerão alterações nas suas frequências alélicas, de modo semelhante àquela observada para um único gene. Contudo, como os caracteres quantitativos são muito influenciados pelo ambiente, podendo apresentar baixa herdabilidade, o progresso com a seleção será ainda mais lento, porque muitos indivíduos com alelos indesejáveis, sendo favorecidos pelas condições ambientais, não serão eliminados pela seleção. Além disso, não é possível acompanhar as alterações das frequências alélicas, como as mostradas na Tabela 13.4 e Figura 13.1.

**TABELA 13.4.** Estimativas das frequências alélicas esperadas com a seleção, considerando uma população com frequência inicial do alelo recessivo de 0,9 e seleção contra todos os genótipos homozigóticos recessivos.

Ciclos seletivos	Frequências alélicas	Alterações nas frequências alélicas	
		$\Delta q$	$\Delta q \%$
0	$q_0 = 0,9000$	-	-
1	$q_1 = 0,4737$	-0,4263	-47,4
2	$q_2 = 0,3214$	-0,1523	-32,1
3	$q_3 = 0,2432$	-0,0782	-24,3
4	$q_4 = 0,1957$	-0,0475	-19,6
5	$q_5 = 0,1636$	-0,0321	-16,4
6	$q_6 = 0,1406$	-0,0230	-14,1
7	$q_7 = 0,1233$	-0,0173	-12,3
8	$q_8 = 0,1098$	-0,0135	-11,0
9	$q_9 = 0,0989$	-0,0109	-9,9

Assim sendo, o melhoramento de plantas e animais tem como fundamento a seleção de genótipos, visando a aumentar as frequências dos alelos favoráveis. Conseqüentemente, uma população será superior a outra quando apresentar maior frequência de alelos favoráveis. Além disso, pelo que foi exposto, o melhoramento das populações por meio da seleção vai

se tornando mais difícil, isto é, com ganhos menores com o incremento das frequências dos alelos favoráveis.



**FIGURA 13.1.** Frequência de indivíduos homocigotos recessivos ao longo de quinze gerações de seleção contra o alelo recessivo indesejável, cuja frequência inicial era  $q_0 = 0,9$ .

### 13.6.2 MIGRAÇÃO

Em plantas, a migração ocorre, por exemplo, quando se misturam sementes de duas ou mais populações e as plantas oriundas dessas sementes são cruzadas entre si. Outra forma comum de migração é a entrada de pólen trazido pelo vento ou polinizadores – insetos, aves, morcegos, etc. Em animais, a migração ocorre quando se introduzem animais de outras procedências no rebanho, ou mesmo sêmem adquirido de empresas de melhoramento animal. O efeito da migração nas propriedades genéticas de uma população depende da diferença nas frequências alélicas da população original e de indivíduos migrantes e da proporção de indivíduos que migram. A nova frequência alélica ( $q_1$ ) da população após a migração é fornecida por:

$$q_1 = (1 - M) q_0 + M \cdot q_m$$

em que:

$q_1$  é a frequência de um determinado alelo após a migração;

$q_0$  é a frequência do alelo considerado antes da migração;

$M$  é a proporção de indivíduos migrantes;

$q_m$  é a frequência do alelo considerado na população de indivíduos migrantes.

A mudança na frequência alélica da população ( $\Delta q$ ) decorrente da migração é:

$$\Delta q = q_1 - q_0$$

$$\Delta q = (1 - M)q_0 + Mq_m - q_0$$

$$\Delta q = M (q_m - q_0)$$

Isto é, o efeito da migração depende, como já foi dito, da proporção de indivíduos migrantes e da diferença nas frequências alélicas da população receptora e da população migrante.

Como exemplo, voltemos à população de milho contendo o alelo braquítico. Foi mostrado que, na população em equilíbrio, as frequências dos alelos  $\mathbf{Br}_2$  e  $\mathbf{br}_2$  eram de 0,1 e 0,9, respectivamente. Considerando que em uma amostra de 4.000 sementes representativas dessa população fossem misturadas 1.000 sementes de uma população contendo apenas indivíduos normais homozigotos, qual seria a frequência alélica nesta nova população? Para responder a essa indagação, basta utilizar a expressão:

$$q_1 = (1 - M)q_0 + Mq_m$$

$$\text{sendo: } M = \frac{1.000}{5.000} = 0,2 \text{ e } q_m = 0,0;$$

Desse modo, obtém-se:  $q_1 = 0,9(1 - 0,2) + 1(0,0) = 0,72$ .

Assim, na nova população, a frequência do alelo  $\mathbf{br}_2$  deverá ser de 0,72 e do alelo  $\mathbf{Br}_2$  de 0,28.

### 13.6.3 Mutação

A mutação é o fenômeno genético que origina novos alelos nas populações. A sua ocorrência é muito rara, da ordem de  $10^{-4}$  a  $10^{-8}$  mutantes por geração, isto é, um em dez mil ou cem milhões de gametas é mutante. Desse modo, a sua importância em termos de alterações nas propriedades genéticas de uma população só ocorre se ela for recorrente, isto é, se o evento mutacional se repetir regularmente com uma dada frequência.

Convém salientar que o efeito da mutação em uma população só pode ser observado a longo prazo. Além disso, pode-se demonstrar que existem condições em que, mesmo ocorrendo mutação, a população permanece em equilíbrio.

#### 13.6.4 Processo Dispersivo

O processo dispersivo está associado a problemas de amostragens em populações pequenas. A amostragem ocorre quando os indivíduos da população produzem seus gametas e estes se unem para formar a geração seguinte. Os gametas que dão origem à geração seguinte são considerados uma amostra de todos os gametas da população. Se, por qualquer razão, o tamanho da população é muito reduzido, dificilmente todos os alelos estarão representados com a mesma frequência da geração anterior.

A utilização de populações pequenas pode contribuir para dois fenômenos distintos: a) Promover a fixação ou eliminação de determinados alelos da população; b) Aumentar a frequência dos acasalamentos entre indivíduos aparentados (endogamia). No primeiro caso, o fenômeno se dá inteiramente ao acaso e é um dos maiores problemas da amostragem deficiente. O efeito dessas amostragens ao longo das gerações é que as frequências alélicas flutuam irregularmente em torno da frequência alélica inicial, processo esse denominado de **deriva genética**. O resultado dessa oscilação das frequências alélicas é que eventualmente pode ocorrer perda ou fixação de um certo alelo ( $q = 0$  ou  $q = 1$ ). Nesse ponto, todos os indivíduos da população seriam geneticamente idênticos, impedindo progresso genético com a seleção para o loco em questão. A variância da frequência alélica é dada por  $\sigma_q^2 = \frac{pq}{2N}$ , em que N representa o número de indivíduos amostrados.

#### Endogamia ou consanguinidade

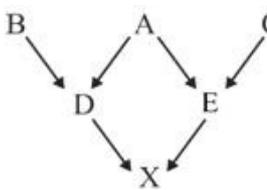
Uma das pressuposições do equilíbrio de Hardy-Weinberg é que os acasalamentos entre os membros da população sejam totalmente ao acaso. Contudo, em muitas espécies, pode haver uma tendência de os acasalamentos ocorrerem entre indivíduos aparentados, o que caracteriza a endogamia ou consanguinidade. Assim, um indivíduo endogâmico é aquele cujos pais são geneticamente relacionados, ou seja, são aparentados. Dois indivíduos são considerados parentes quando possuem ancestrais comuns na sua genealogia, ou quando um é descendente do outro.

Quando ocorre endogamia, há uma maior probabilidade na descendência de que os indivíduos possuam cópias de um mesmo alelo ancestral o que leva, conseqüentemente, a um aumento na proporção de homocigotos (Tabela 13.5). Existem diversas formas de ocorrer a endogamia como, por exemplo, acasalamentos entre pais e filhos, entre irmãos, entre primos, etc. Quanto mais forte for o parentesco entre os indivíduos que se acasalam, maior será a probabilidade de os descendentes possuírem alelos que são cópias de um alelo ancestral (Figura 13.2 e Box 13.1). A forma mais drástica de endogamia é a autofecundação, que ocorre em muitas espécies vegetais e apenas em algumas espécies animais.

**BOX 13.1. COMO MEDIR A ENDOGAMIA OU CONSANGUINIDADE**

A endogamia ou consanguinidade é o acasalamento entre indivíduos aparentados. Ela é medida pelo coeficiente de endogamia, que varia de 0 a 1. O coeficiente de endogamia é a probabilidade de dois alelos de um loco tomados, ao acaso, de um indivíduo serem idênticos por descendência. O coeficiente de endogamia mede o aumento na probabilidade de um indivíduo possuir alelos idênticos por descendência (homozigose) em relação a um indivíduo de uma população panmítica, onde os acasalamentos são completamente ao acaso. Assim, se um indivíduo tem o coeficiente de endogamia de 0,25 ele tem cerca de 25% a mais de ser homozigoto em relação a indivíduos não consanguíneos. A fórmula geral para se estimar o coeficiente de endogamia (ou de consanguinidade) é:

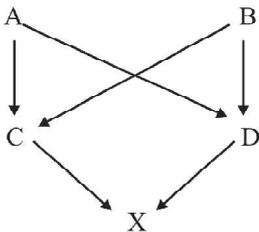
$$F_X = \sum \left(\frac{1}{2}\right)^n (1 + F_A)$$
 em que,  $F_X$  é o coeficiente de endogamia do indivíduo X e  $F_A$  é o coeficiente de endogamia do genitor comum em cada caminho que une os genitores do indivíduo X.  $n$  é o número de indivíduos que fazem parte do caminho entre os genitores do indivíduo X. Por exemplo, considere o seguinte pedigree:



O coeficiente de endogamia (consanguinidade) do indivíduo X seria:

$F_X = \left(\frac{1}{2}\right)^3 \cdot (1 + F_A) = 1/8$ . Nesse caso,  $n$  é igual a 3, pois são três os indivíduos que fazem parte do caminho que liga os genitores de X (D, A, E) e  $F_A$  (ancestral comum) é zero.

Quando existe mais de um caminho o coeficiente de endogamia é dado pelo somatório dos  $F$ 's de cada caminho. Por exemplo, considere o seguinte pedigree:



Nesse caso, ocorrem dois caminhos até X: o primeiro envolve o genitor comum A, isto é, C, A, D. O segundo envolve o genitor comum B, isto é, C, B, D. Assim, o coeficiente de endogamia seria:

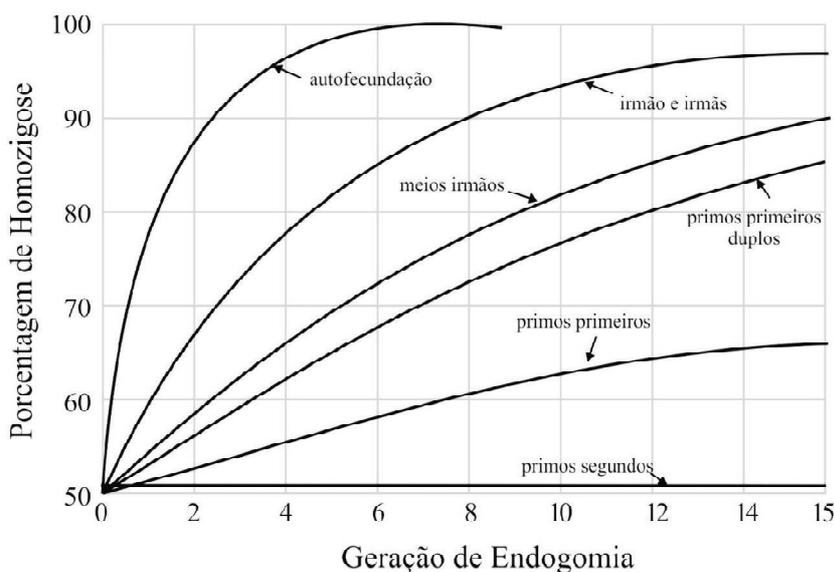
$$F_X = \left(\frac{1}{2}\right)^3 (1 + F_A) + \left(\frac{1}{2}\right)^3 (1 + F_B) = \frac{1}{8} + \frac{1}{8} = \frac{1}{4}$$
, considerando que os genitores comuns A e B não sejam endogâmicos.

Em pedigrees mais complexos podem ocorrer vários caminhos. Cada caminho deverá ter pelo menos um indivíduo diferente dos caminhos anteriores, além disso, em cada caminho não se pode passar mais de uma vez pelo mesmo indivíduo. Finalmente, deve-se considerar que em cada caminho há mudança na direção das setas apenas no ancestral comum.

Como exemplo do efeito da endogamia, vamos considerar novamente a população de plantas braquíticas de milho, mencionada anteriormente. Qual seria o efeito nesta população, se todas as plantas forem autofecundadas?

**TABELA 13.5.** Estimativas das frequências genótípicas, após g gerações de autofecundação em uma população qualquer.

Genótipos	Frequências genótípicas	
	Antes da Autofecundação	Após g Autofecundações
AA	$D_0$	$D_g = D_0 + \frac{1}{2} \left[ 1 - \left( \frac{1}{2} \right)^g \right] H_0$
Aa	$H_0$	$H_g = \left( \frac{1}{2} \right)^g H_0$
aa	$R_0$	$R_g = R_0 + \frac{1}{2} \left[ 1 - \left( \frac{1}{2} \right)^g \right] H_0$



**FIGURA 13.2.** Curvas mostrando o aumento na porcentagem de homozigose em gerações sucessivas sob vários sistemas de acasalamentos.

No exemplo considerado, têm-se plantas homozigóticas  $Br_2Br_2$  de altura normal (cerca de 2,5 m) com frequência de 0,01; plantas heterozigóticas  $Br_2br_2$  de altura normal (2,5 m) com frequência de 0,18 e plantas homozigóticas  $br_2br_2$  (braquíticas, cerca de 1,5 m de altura) com frequência de 0,81. Autofecundando todos os indivíduos teremos os descendentes  $Br_2Br_2$ ,  $Br_2br_2$  e  $br_2br_2$  nas proporções de 0,055; 0,090 e 0,855, respectivamente (Tabela 13.6).

**TABELA 13.6.** Frequências genotípicas nas populações de milho em equilíbrio e após uma geração de autofecundação.

Genótipos	Altura Média	População	
		Equilíbrio	Autofecundação
Br <sub>2</sub> Br <sub>2</sub>	2,5	0,01	0,055
Br <sub>2</sub> br <sub>2</sub>	2,5	0,18	0,090
br <sub>2</sub> br <sub>2</sub>	1,5	0,81	0,855
Altura média na população		1,69 m	1,645 m

É oportuno mostrar que as frequências alélicas não se alteram com a endogamia:

$$\text{População em equilíbrio: } p(Br_2) = 0,01 + \frac{0,18}{2} = 0,10$$

$$\text{População após a autofecundação: } p(Br_2) = 0,055 + \frac{0,09}{2} = 0,10$$

Por outro lado, observa-se que houve aumento na frequência de homozigotos em detrimento da frequência de heterozigotos. Esse aumento na frequência de indivíduos homozigotos é responsável também pela redução da média populacional (1,69 m vs. 1,64 m), fenômeno este, que é denominado de **depressão por endogamia**.

A depressão por endogamia é um fenômeno amplamente conhecido em espécies vegetais e animais e sua ocorrência depende, entre outros fatores, da existência de interação alélica de dominância. Os resultados da endogamia podem ser visualizados pelo aumento da frequência de fenótipos recessivos e que são, frequentemente deletérios, tais como aumento da taxa de mortes fetais e de mal-formações, redução do vigor, da fertilidade, do tamanho do indivíduo e da produção (Box 13.2 e Box 13.3). Em muitas espécies, como em algumas culturas e animais domésticos, em que a endogamia não é muito aparente, a seleção já eliminou muitos desses alelos deletérios.

**BOX 13.2.** EFEITOS MALÉFICOS E BENÉFICOS DA ENDOGAMIA (OU CONSANGUINIDADE)

A consanguinidade normalmente é associada a efeitos maléficos e, por muitos anos, tem sido condenada na espécie humana. Assim, casamentos entre indivíduos aparentados têm sido proibidos por diversas sociedades e religiões. As proibições contra a consanguinidade são tão profundamente enraizadas na Europa que, há 200 anos, os melhoristas de animais são aconselhados a não usá-la por serem contra as “Leis de Deus e da Natureza”. Contudo, os melhoristas de animais ignoraram essas recomendações quando descobriram que a consanguinidade era uma técnica que poderia ser usada para desenvolver novas raças de animais, melhorar os rebanhos e produzir animais com performance superior.

A consanguinidade leva à depressão por endogamia que é uma redução no crescimento e viabilidade, associada a um aumento de anomalias. Em suínos, por exemplo, diversos caracteres de importância econômica têm suas médias reduzidas em função do coeficiente de endogamia (ou consanguinidade). Quanto maior o grau de endogamia, maior é a redução na média populacional. Trabalho realizado por Beres Kin et al. (1968) obteve o seguinte resultado para média em função do coeficiente de endogamia (F).

F	Número nascidos vivos	Peso ao nascer (g)	Tamanho da leitegada na desmama	Peso na desmama (g)	Pesos aos 154 dias (kg)
0,10	- 0,3	- 31,7	- 0,5	- 439,4	- 1,0
0,20	- 0,6	- 45,3	- 1,1	- 1.263,9	- 4,9
0,30	- 0,9	- 49,0	- 1,8	- 2.310,3	- 10,1
0,40	- 1,2	- 58,8	- 2,5	- 3.438,3	- 14,9
0,50	- 1,5	- 891,5	- 3,1	- 4.489,2	- 17,8

Em cães, a consanguinidade tem sido fortemente combatida, pois muitas raças “puras” apresentam inúmeros defeitos como displasia dos quadris, mau alinhamento das mandíbulas, luxação da patela, acalásia, aumento de partos por cesariana, fertilidade reduzida, alta taxa de mortalidade de filhotes, aumento de infecções, etc.

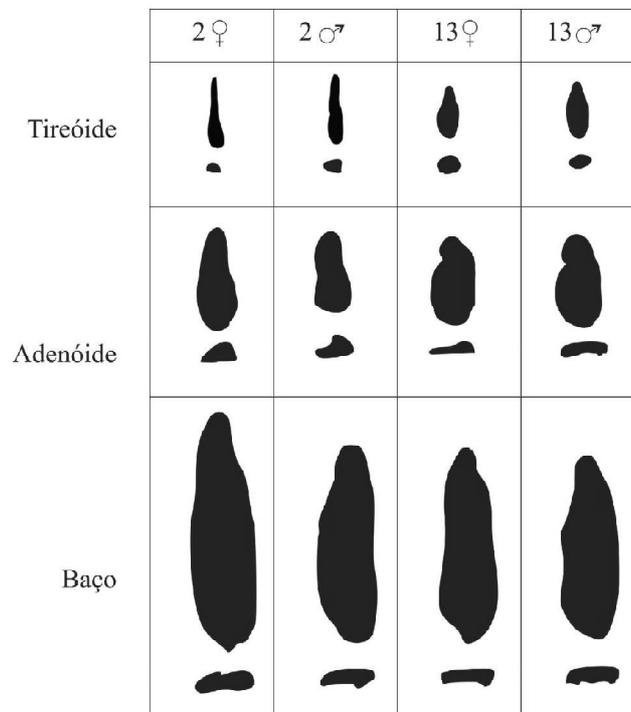
Por outro lado, a endogamia também pode ser benéfica, pois aumenta a prepotência, que é a habilidade de um animal em transferir os seus fenótipos para os descendentes. Essa prepotência é resultado do aumento da homozigose. Como um indivíduo consanguíneo possui maior número de locos em homozigose comparado a um indivíduo não consanguíneo, existe menor número de combinações gênicas para a formação de seus gametas. Como consequência, a descendência é mais uniforme.

### **BOX 13.3.** ENDOGAMIA (CONSANGUINIDADE) EM PORQUINHOS DA ÍNDIA

Uma das investigações mais extensivas e surpreendentes sobre consanguinidade foi realizada em porquinhos da Índia (*Cavia porcellus*) pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos em Washington, a partir de 1906. Trinta e cinco fêmeas saudáveis e vigorosas foram selecionadas e cruzadas com um grupo menor de machos também selecionados, gerando 35 famílias. Os acasalamentos foram numerados e, a partir daí, todos os demais

cruzamentos foram realizados entre irmãos e irmãs de uma mesma família. Isso continuou geração após geração, sempre tomando os dois melhores indivíduos. Doze dessas famílias foram paralisadas, antes do final do experimento, por várias razões. Das 23 famílias restantes uma se extinguiu após 5 anos, uma após 8 anos, três após 9 anos e três após 11 anos. Em 1917, por falta de espaço, apenas cinco famílias foram perpetuadas e as demais descartadas.

Dois resultados surpreendentes foram observados após um grande número de gerações de acasalamentos consanguíneos: (1°) cada família se tornou gradualmente mais homogênea, mas com uma notável diferenciação entre as famílias. Algumas famílias se tornaram extremamente homogêneas para caracteres tais como: cor da pelagem, cor dos olhos, proeminência dos olhos, conformação do corpo e até mesmo temperamento. (2°) ocorreu um declínio acentuado em vigor pelos primeiros nove anos (cerca de 12 gerações). A partir daí, não houve mais redução de vigor, indicando que as famílias se tornaram puras, isto é, homozigóticas na maioria dos locos. Além dos caracteres morfológicos já descritos, houve também grande variação entre as famílias com relação aos órgãos internos dos animais. O fígado, pulmão e coração foram muito maiores na família 13 do que na família 2. A tireóide, adenóides e baço diferiram não só no tamanho, mas também no formato entre as duas famílias.



As famílias diferiram ainda, no peso e número dos descendentes, bem como na resistência à tuberculose. Infere-se que essas diferenças foram provenientes da segregação e recombinação dos vários genes que controlam esses caracteres e o aumento na homozigose.

### 13.6.5 Seleção com endogamia

A eficiência da seleção em populações em que a frequência do alelo indesejável é muito baixa, pode ser incrementada, empregando-se acasalamentos endogâmicos. Considere, por exemplo, a razão entre a frequência do genótipo recessivo após  $g$  gerações de autofecundação ( $g_{ra}$ ) e a frequência do mesmo genótipo na população em equilíbrio ( $g_{re}$ ), ou seja, pela Tabela 13.5, tem-se:

$$\frac{g_{ra}}{g_{re}} = 1 + \frac{1}{2R_0} \left[ \frac{2^g - 1}{2^g} \right] H_0$$

Essa razão mostra que se o alelo recessivo estiver em alta frequência na população em equilíbrio ( $q_0$ ) não compensa utilizar a autofecundação para a sua eliminação. Porém, quando  $q_0$  for pequeno, sua eliminação será menos efetiva numa população em equilíbrio do que numa autofecundada. Para ilustrar esse fato, vamos utilizar novamente o caráter altura da planta do milho, controlada pelos alelos  $Br_2$  e  $br_2$ . Suponha uma população em equilíbrio em que a frequência do alelo  $br_2$  é de 0,8. Pode-se aquilatar a eficiência da seleção praticada nessa população antes ou após uma autofecundação ( $g = 1$ ) através da razão  $g_{ra}/g_{re}$ , ou seja:

$$g_{ra}/g_{re} = 1,125$$

Assim, a autofecundação antes da seleção propiciou uma melhoria na eficiência da seleção pelo aumento da frequência do genótipo homozigótico,  $br_2br_2$ , de apenas 1,125 vezes em relação à população em equilíbrio. Suponha, agora, outra população em equilíbrio, cuja frequência do alelo  $br_2$  é de 0,05. Nesse caso, teremos  $g_{ra}/g_{re} = 10,5$ , mostrando que a frequência do genótipo  $br_2br_2$  é bem maior na população autofecundada do que na população em equilíbrio. Fica assim evidenciado que a seleção será muito mais eficiente nessa população autofecundada, uma vez que se poderá eliminar 10,5 vezes mais indivíduos indesejáveis.

Como a autofecundação antes da seleção exige mais uma geração, o processo seletivo fica mais demorado. Desse modo, quando o melhorista possui uma população que está pouco melhorada, isto é, onde a frequência do alelo recessivo é alta, ele realiza os ciclos seletivos iniciais sem autofecundá-la. Porém, quando a população já está com baixa frequência do alelo recessivo, a melhoria da eficiência da seleção após a autofecundação compensa o tempo adicional gasto.

**PROBLEMAS PROPOSTOS**

1. Em 6.000 animais da raça shorthorn de bovino foram identificados os seguintes números, segundo a cor da pelagem:

Fenótipo	Genótipos	Número de animais
Branco	$B^1B^1$	516
Vermelho-branco	$B^1B^2$	2.628
Vermelho	$B^2B^2$	2.856
Total		6.000

Pede-se:

- Determinar as frequências genotípicas e alélicas nessa população.
  - Verifique se essa população está em equilíbrio de Hardy-Weinberg.
2. Na planta conhecida como Maravilha, a cor da flor pode ser vermelha ( $V^1V^1$ ), rosa ( $V^1V^2$ ) ou branca ( $V^2V^2$ ). Em uma população panmítica, composta por 2.000 plantas foram encontradas 125 com flores brancas.
- Quais as frequências dos alelos  $V^1$  e  $V^2$  nessa população?
  - Entre os 2.000 indivíduos, quais os números esperados de plantas com flores vermelhas e rosas?
3. Utilizando os dados do problema 2, se o jardineiro coletar sementes apenas das plantas de flores rosas para formar um novo jardim, qual deverá ser a proporção fenotípica esperada?
4. Num plantel em equilíbrio com 1.200 animais da raça holandesa, 48 apresentam pelagem vermelha-branca, os demais animais são preto-brancos. Sabendo-se que a pelagem vermelha-branca é decorrente do alelo recessivo  $b$ , pergunta-se:
- Qual a frequência do alelo  $B$  nesse plantel?
  - Se os indivíduos vermelho-brancos forem eliminados, qual será o número de animais com esse fenótipo, após atingir o equilíbrio e mantendo-se o plantel com 1.200 animais?
5. Tomando-se, ao acaso, dois animais preto-brancos do plantel mencionado no problema 4 antes de sofrer a seleção, qual a probabilidade de se obter um descendente vermelho-branco?
6. Em cebolas, a cor do bulbo pode ser roxa, em decorrência do alelo dominante  $A$  e amarela pelo alelo recessivo  $a$ . Numa população com 10.000 plantas, em equilíbrio de Hardy-Weinberg, ocorrem 1.600 plantas com bulbos amarelos.

- a) Qual a frequência do alelo  $a$  nessa população?
- b) Qual o número de plantas com bulbos roxos e genótipo homocigótico que ocorre entre as 10.000 plantas?
- c) Se o agricultor realizar cinco gerações de seleção visando a obtenção de um cultivar que produza apenas bulbos roxos, qual a proporção esperada de plantas que ainda apresentarão bulbos amarelos na população descendente, em equilíbrio?
7. Partindo-se da população melhorada do item c, do problema 6, quantos ciclos de seleção ainda deverão ser realizados para se obter uma nova população em que apenas 0,49% das plantas possuem bulbos amarelos?
8. Considerando todas as populações de cebola citadas nos problemas 6 e 7, em qual delas a autofecundação contribuirá para a eliminação mais rápida do alelo?
9. No milho, a textura do grão pode ser lisa (**Su-**) ou enrugada (**susu**). A cor amarela do grão é decorrente do alelo **Y** e a branca ao alelo **y**. Em uma população em equilíbrio foi tomada uma amostra de 2.400 grãos, sendo 816 lisos e amarelos, 776 lisos e brancos, 408 enrugados e amarelos e 400 enrugados e brancos.
- a) Quais as frequências dos alelos **Su** e **Y**, nessa população?
- b) Qual a frequência esperada de indivíduos homocigóticos lisos e amarelos?
10. Utilizando os dados do problema 9:
- a) Quais serão as novas frequências alélicas para os dois caracteres se forem eliminadas todas as sementes enrugadas ou brancas?
- b) Qual será a frequência de sementes lisas e amarelas após a população atingir novamente o equilíbrio?
11. A cor da raiz da cenoura é controlada por um gene, sendo o alelo **Y** responsável pela cor branca e seu recessivo **y** por cor amarela. Um agricultor colheu 20.000 sementes de uma população panmítica que apresentava 64% de plantas com raízes brancas. Como é de seu interesse aumentar a proporção de plantas com raízes amarelas, ele misturou às suas sementes 5.000 sementes de um cultivar homocigótico para raízes amarelas. Qual a frequência esperada de plantas com raízes amarelas na nova população após o equilíbrio?

# 14 ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS

## 14.1 INTRODUÇÃO

Consideramos nos capítulos anteriores que os cromossomos se comportam normalmente durante a mitose e meiose de modo que sua estrutura e número, isto é, o **cariótipo** das espécies, permanece inalterado através das gerações. Porém, em algumas situações, podem ocorrer irregularidades, que são denominadas aberrações cromossômicas. Essas aberrações podem ocorrer tanto no número quanto na estrutura dos cromossomos e são chamadas, respectivamente, de aberrações cromossômicas numéricas e estruturais. Neste capítulo, objetiva-se apresentar as causas dessas aberrações e algumas de suas consequências citológicas e genéticas.

## 14.2 ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS NUMÉRICAS

Ao se tratar das bases citológicas da herança (Capítulo 4), assumimos que as células somáticas apresentam um par de cada um dos cromossomos característicos da espécie. Essas células, bem como os organismos que as possuem, recebem o nome de diploides. No entanto, certos fenômenos anormais podem ocorrer espontaneamente ou serem induzidos pelo homem, provocando alterações da condição diploide. As mudanças no número de cromossomos são de dois tipos básicos: mudanças em conjuntos cromossômicos inteiros - euploidia - e mudanças em partes de conjuntos cromossômicos - aneuploidia.

### 14.2.1 Euploidia

Euploides são células ou organismos cujo número somático -  $2n$  - de cromossomos é múltiplo exato do número básico -  $x$  - de cromossomos da espécie. Assim, espécies normais diploides são aquelas que apresentam  $2n = 2x$  cromossomos, isto é, o conjunto básico de cromossomos ou **genoma** é repetido duas vezes ( $2x$ ). Por outro lado, há espécies em que o genoma é repetido um maior número de vezes, constituindo os chamados poliploides, por exemplo,  $2n = 3x, 4x, 5x, 6x$ , que correspondem, respectivamente, aos triploides, tetraploides, pentaploides e hexaploides.

Os poliploides são classificados em **autopoliploides**, quando um único genoma básico é repetido, e **alopoliploides** quando ocorrem dois ou mais genomas diferentes. Por exemplo, usando uma letra maiúscula para representar um genoma, teremos para os autopoliploides

AAAA, enquanto para os aloploiploides seria AABB. Note que os autopoliploides têm apenas um genoma básico - A -, havendo uma completa homologia entre os cromossomos de cada grupo e um perfeito pareamento na meiose. Por outro lado, os aloploiploides apresentam dois ou mais genomas básicos diferentes - A e B -, o que, provavelmente, é resultado da hibridação de genitores que possuíam diferenças marcantes em seus genomas. Assim, a homologia e pareamento dos cromossomos se dá normalmente apenas entre os genomas idênticos.

Cerca de 40% das espécies cultivadas são poliploides (Simmonds, 1980), entre elas o trigo (*Triticum aestivum*), alfafa (*Medicago sativa*), o algodão (*Gossypium hirsutum*), a batata (*Solanum tuberosum*), o morango (*Fragaria ananassa*), o tabaco (*nicotiana tabacum*), a cana de açúcar (*Saccharum officinarum*), e o café (*Coffea arabica*). O triticales é a única planta cultivada poliploide criada pelo homem.

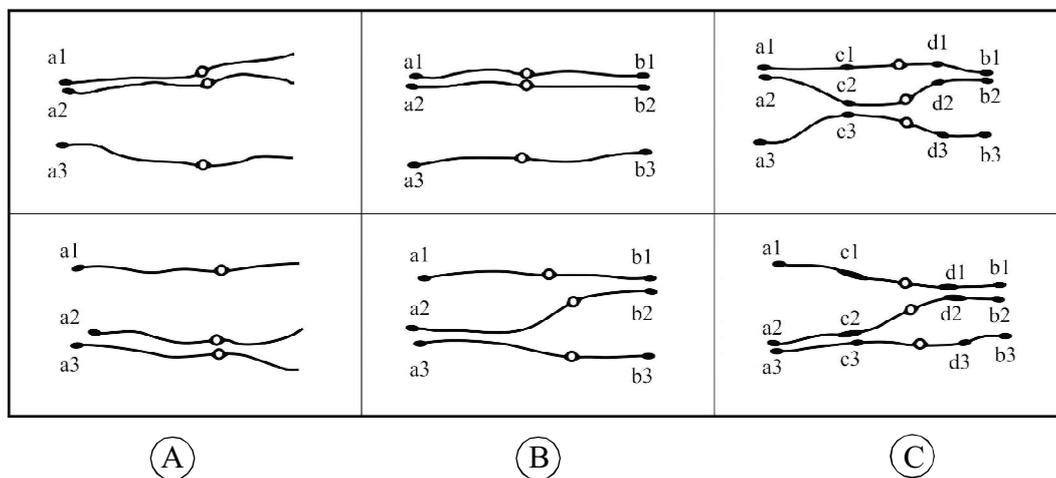
#### 14.2.1.1 Autopoliploides

Em geral, os autopoliploides, por possuírem maior número de cromossomos, apresentam, conseqüentemente, maior volume nuclear e celular. Esse aumento, se não associado a uma redução correspondente ao número de células, pode provocar o crescimento exagerado de certas partes das plantas, o que pode ser vantajoso em alguns casos. Por exemplo, maior tamanho de partes florais é uma característica que pode ser vantajosa em plantas ornamentais. Em forrageiras, folhas maiores pode ser uma vantagem, enquanto em fruteiras, frutos maiores são mais apreciados. Além disso, a poliploidia também pode estar associada a outras características, tais como fertilidade reduzida, maturação tardia e alterações em constituintes químicos, como, por exemplo, alcaloides usados como drogas, vitaminas, tipos e proporções de carboidratos e proteínas.

A autopoliploidia pode ocorrer espontaneamente ou ser induzida. Como em alguns casos a autopoliploidia é vantajosa, diversos métodos têm sido aplicados para a sua obtenção. Dentre estes, o mais empregado é o tratamento com o alcaloide colchicina. A **colchicina** afeta a divisão celular, inibindo a formação das fibras do fuso, impedindo, dessa forma, a separação das cromátides irmãs durante a anáfase mitótica. Conseqüentemente, o núcleo formado possuirá dobro do número de cromossomos das células do tecido tratado. Por exemplo, o tratamento de tecidos diploides ( $2n = 2x$ ) dará origem a células tetraploides ( $2n = 4x$ ), ou com maior nível de ploidia dependendo do tempo de exposição ao alcaloide. Durante as mitoses subsequentes, na ausência de colchicina, as divisões são normais e dessa forma são produzidos tecidos com o nível de ploidia desejado.

Os autotriploides ( $2n = 3x$ ) podem ocorrer ocasionalmente entre a progênie de indivíduos diploides como resultado do funcionamento de gametas não reduzidos, isto é,  $n = 2x$ . Outra possibilidade é a fertilização do óvulo por dois núcleos espermáticos de um

grão de pólen. Os triploides podem ocorrer ainda na progênie de tetraploides cruzados com diploides. Os indivíduos triploides apresentam três cópias de cada um dos cromossomos homólogos, de modo que seu comportamento meiótico apresente algumas particularidades. Assim, no paquíteno poderá haver a formação de bivalentes mais **univalentes** - cromossomo não pareado com seu homólogo - bem como **trivalentes** - três homólogos pareados. Em cada ponto de pareamento, apenas dois cromossomos podem se associar. Isso implica, que para a formação de trivalentes, há necessidade de pelo menos duas regiões de início do pareamento (Figura 14.1). Além do mais, a manutenção do trivalente até a metáfase I só é possível se forem formados quiasmas entre os três homólogos. Caso contrário, os cromossomos homólogos se separam durante o diplóteno.



**FIGURA 14.1.** Três diferentes modos de início de pareamento em trissômicos: A) quando ocorre apenas um ponto de início forma-se um bivalente mais um univalente; B) com dois pontos de início de pareamento há possibilidade de formação de trivalentes; C) com vários pontos de início de pareamento há maior probabilidade de formação de trivalentes (Adaptado de Sybenga, 1972).

A separação cromossômica do trivalente, durante a anáfase I, é irregular. Cada núcleo filho receberá um ou dois cromossomos de cada trivalente, de modo que os dois núcleos serão haploides com alguns cromossomos adicionais. Em consequência, a grande maioria dos gametas resultantes de indivíduos triploides não possui complementos cromossômicos balanceados o que não é, portanto, viável, causando a esterilidade do indivíduo. A alta esterilidade do autotriploide tem sido utilizada com vantagem na produção de melancia sem sementes bem como em algumas plantas ornamentais, que apresentam maior longevidade das flores pelo fato de que estas não são fecundadas por pólen viável. Como exemplo de espécies triploides podem-se citar: alguns clones de bananas, maçãs, peras, limão taiti e uva.

Nos autotetraploides existem quatro cromossomos homólogos -  $2n = 4x$  -, os quais podem se parear de diferentes maneiras, dependendo dos pontos de início do pareamento. Assim, no paquíteno são possíveis a formação de dois bivalentes, ou um trivalente mais um univalente, ou ainda a formação de um tetravalente. Dependendo do modo de orientação dos cromossomos pareados na placa equatorial, durante a metáfase I, haverá ou não distribuição irregular dos cromossomos para os gametas, o que pode torná-los inviáveis. No entanto, o grau de esterilidade dos tetraploides é sempre menor do que nos triploides, sendo que os gametas funcionais possuem  $n = 2x$  cromossomos. Entre as plantas cultivadas existem algumas que são autotetraploides, como, por exemplo, a batata e alfafa.

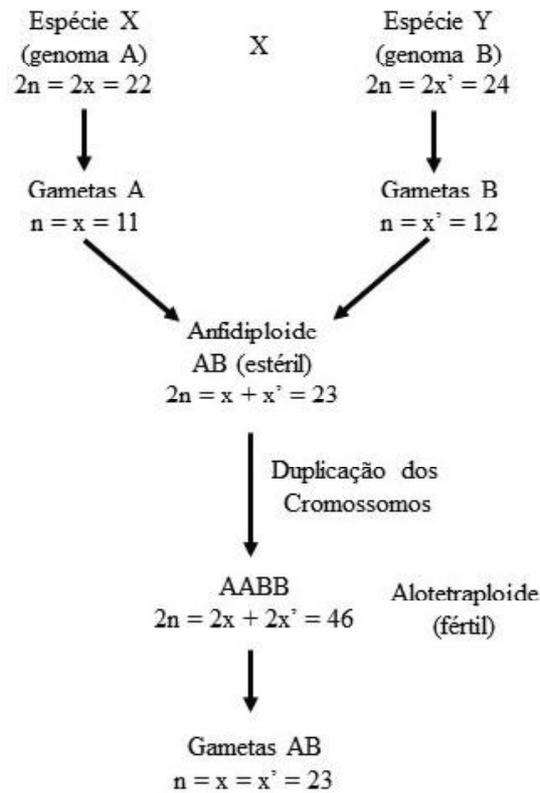
Em níveis mais elevados de ploidia, pode ocorrer a formação de multivalentes e, em todos os casos, observam-se anormalidades meióticas, quase sempre acompanhadas de esterilidade parcial ou total. Deve ser salientado, contudo, que durante o processo evolutivo de algumas espécies poliploides deve ter ocorrido seleção de mecanismos que propiciem a maior formação de bivalentes ou a segregação regular dos cromossomos resultando baixos níveis de esterilidade.

Sob o ponto de vista genético, é fácil visualizar que a segregação é algo diferente da que ocorre nos diploides. Isso porque cada gene estará representado por tantos alelos quantos forem o número de cromossomos homólogos. Em razão da complexidade das segregações, que são normalmente observadas nas progênes poliploides, esse assunto não será tratado aqui.

#### 14.2.1.2 Alopoliplóides

Como já comentado, os alopoliplóides ou aloploides são indivíduos cujo complemento cromossômico consiste em dois ou mais genomas provenientes de espécies diferentes. Provavelmente, os alopoliplóides surgem na natureza pela duplicação dos cromossomos após um cruzamento interespecífico. Vejamos como isso pode acontecer: quando ocorre um cruzamento interespecífico, o descendente recebe apenas um genoma de cada genitor e é denominado **anfipoliplóide** ou **anfidiplóide**, se as duas espécies parentais forem diploides. Como no anfidiplóide existe apenas um genoma de cada espécie, nesses indivíduos não ocorre pareamento dos cromossomos durante a meiose, a menos que exista alguma homologia entre os genomas das duas espécies. Assim, a produção de gametas não se dá por um processo normal resultando na esterilidade do anfidiplóide.

Com a duplicação dos cromossomos, cada genoma passa a existir em dose dupla, permitindo, desse modo, a ocorrência de pareamentos - formação apenas de bivalentes - e segregações cromossômicas normais. Portanto, o alotetraploide resultante é completamente fértil e a produção de gametas perfeitamente normal. Na Figura 14.2, ilustram-se os passos envolvidos para a formação de um alotetraploide hipotético.



**FIGURA 14.2.** Esquema de formação de um alotetraploide hipotético. O anfidiplóide é estéril em razão da falta de homologia entre os genomas A e B.

Os alopoliploides ocorrem frequentemente na natureza, sendo que inúmeras espécies agronomicamente importantes, tais como trigo, aveia, algodão, cana-de-açúcar e banana, se enquadram nessa classificação. O trigo (*Triticum aestivum*), por exemplo, possui a constituição AABBDD, sendo, portanto, um alohexaploide -  $2n = 6x = 42$  - derivado do cruzamento das espécies *Triticum urartu* (genoma A) com *Aegilops speltoides* (genoma B) o qual deu origem a espécie *Triticum turgidum* (genoma AB) que foi cruzada com a espécie *Aegilops tauschii* (genoma D) originando a espécie *Triticum aestivum* (Petersen et al., 2006).

Os alopoliploides podem também ser obtidos artificialmente, sendo que mais de mil híbridos alopoliploides já foram produzidos experimentalmente. Um dos exemplos de alopoliploides sintetizado foi realizado por Georgi Karpechenko, em 1928. Ele queria obter um híbrido fértil que tivesse as folhas de repolho (*Brassica oleracea*,  $2n = 18$ ) e as raízes de rabanete (*Raphanus sativus*,  $2n = 18$ ) com o objetivo de obter uma planta que produzisse raiz de rabanete e parte aérea semelhante ao repolho. Entre essas duas espécies não existe nenhuma afinidade de seus cromossomos, de modo que uma alta esterilidade ocorre no híbrido  $F_1$ . Nesse caso a obtenção do alotetraploide só ocorreu em razão da formação e união de

gametas não reduzidos. Infelizmente, o objetivo do pesquisador não foi atingido, pois, por ironia, as plantas obtidas possuíam raiz de repolho e folhas de rabanete.

Um outro exemplo de grande interesse na agricultura é o triticale, único anfidiplóide sintético usado comercialmente. Essa espécie artificial foi produzida visando a incorporar em um único tipo de planta as qualidades nutricionais e panificadoras do trigo com a resistência a doenças, adaptação a solos pobres e tolerância à seca do centeio. Os primeiros programas de melhoramento do triticale ( $2n = 56$ ) se basearam em alooctaploides, tais como AABBDDRR, no qual três genomas do trigo (*Triticum*,  $6n = 42$ ) - ABD - foram combinados com um genoma do centeio (*Secale*,  $2n = 14$ ) - R. No entanto, descobriu-se posteriormente, que combinações hexaploides, do tipo AABBRR, eram mais promissoras. Tais combinações foram produzidas pelo cruzamento de *Triticum durum* - AABB - com centeio - RR.

### Ocorrência da poliploidia

Como se pode observar pelos exemplos apresentados, a poliploidia é muito generalizada entre as plantas, sendo rara a sua ocorrência nos animais. Nas plantas, a poliploidia normalmente ocorre no organismo como um todo, podendo ser constatada também apenas em alguns tecidos ou órgãos. Essa última situação, no entanto, é a mais frequente nos animais.

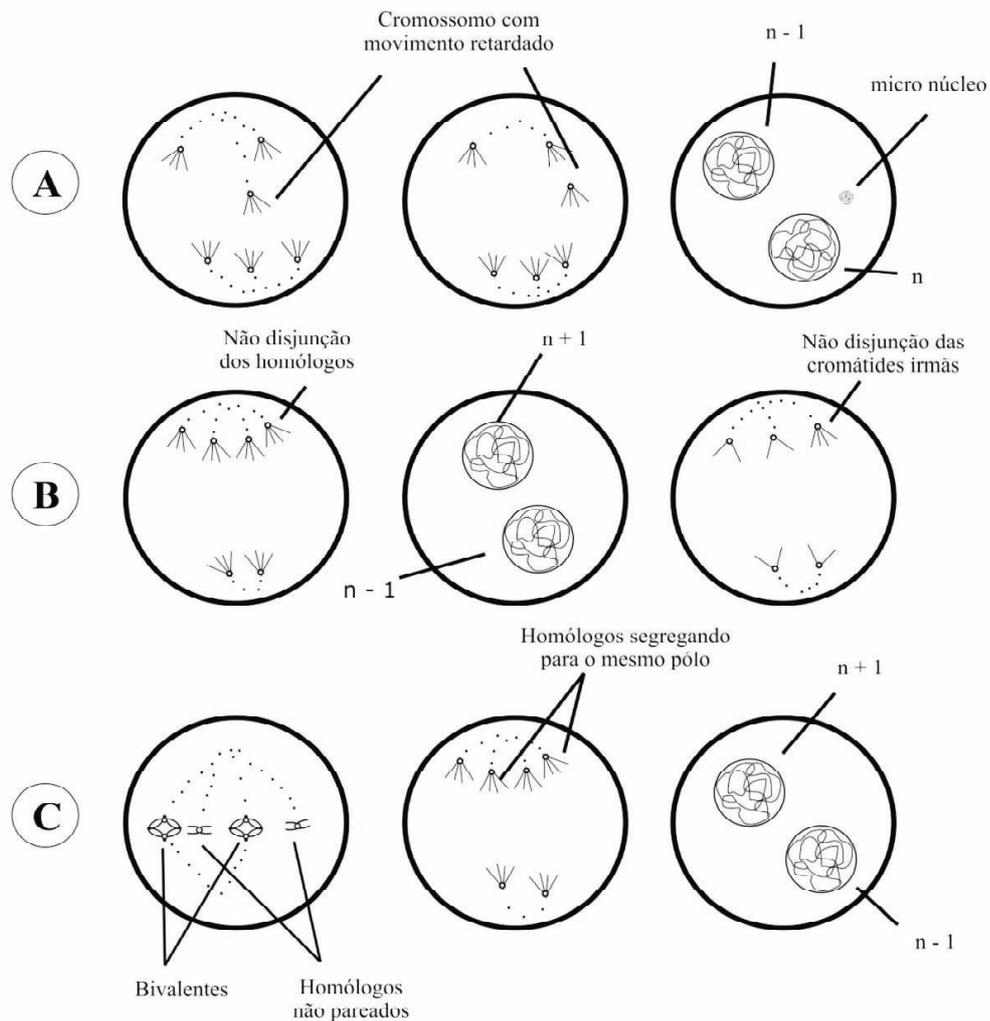
Espécies poliploides de platelmintos, sanguessugas e camarões de água salgada reproduzem-se por partenogênese. *Drosophila* triploides e tetraploides foram sintetizadas experimentalmente. Entretanto, os exemplos não são limitados a essas chamadas formas inferiores. Anfíbios e répteis poliploides de ocorrência natural são surpreendentemente comuns. Eles têm vários modos de reprodução: espécies poliploides de sapos e girinos participam de reprodução sexual, enquanto salamandras e lagartos poliploides são partenogenéticos. Os Salmonidae (família de peixes que inclui o salmão e a truta) são um exemplo familiar das numerosas espécies animais que parecem ter se originado de poliploidia ancestral. Ostras triploides foram desenvolvidas porque têm uma vantagem comercial em relação a seus parentes diploides. Os diploides passam por uma estação reprodutiva, quando não têm bom sabor, mas os triploides estéreis não desovam e têm sabor o ano todo.

As razões para a baixa incidência de poliploidia em animais ainda não estão completamente elucidadas. Existem três hipóteses que têm sido comumente utilizadas para explicar esse fato; são elas: a) Distúrbios nos mecanismos de determinação do sexo; b) Barreiras para a fertilização cruzada; c) Barreiras histológicas. A primeira é a que tem sido mais comumente aceita e se baseia no fato de que a determinação do sexo depende de um perfeito balanceamento dos cromossomos sexuais.

### 14.2.2 Aneuploides

Organismos **aneuploides** são aqueles que se caracterizam por possuírem em suas células somáticas um ou mais cromossomos adicionais ou em falta, em relação ao número normal de cromossomos da espécie. A aneuploidia pode ser causada por diversos fenômenos, tais como:

- Movimento retardado dos cromossomos durante a anáfase (Figura 14.3a);
- Não disjunção, isto é, não segregação de cromossomos ou cromátides, durante a meiose ou mitose (Figura 14.3b);
- Assinapse, ou seja, não pareamento de cromossomos homólogos na meiose (Figura 14.3c);
- Irregularidades na distribuição de cromossomos durante a meiose de organismos poliploides com número ímpar do genoma básico, tais como triploides, pentaploides, etc.



**FIGURA 14.3.** Possíveis alterações meióticas que levam à formação de aneuploides: A) nesse caso o movimento retardado de cromossomo durante a anáfase I provoca a sua perda dando origem a um gameta com  $n-1$  cromossomos; B) não disjunção dos cromossomos. Os cromossomos homólogos passam juntos para o mesmo polo, resultando gametas  $n+1$  e  $n-1$  cromossomos. Na mitose as cromátides irmãs vão para o mesmo polo; C) assinapse ou não pareamento dos cromossomos homólogos pode também formar gametas com excesso ou falta de cromossomos, quando os homólogos assinápticos vão para o mesmo polo.

Existem diversos tipos de aneuploides, sendo os mais comuns os monossômicos e trissômicos. **Monossômicos** são organismos deficientes em um cromossomo, isto é,  $2n = 2x - 1$ , ou  $3x - 1$ , ou  $4x - 1$  etc. Esse tipo de aberração, apesar de rara, tem sido encontrada na espécie humana, em animais, bem como em diversas espécies vegetais. A razão de ser um fenômeno raro reside no fato de que a falta de um cromossomo parece ser letal, ocorrendo eliminação dos gametas deficientes, ou até mesmo o aborto do descendente. Esse tipo de aneuploidia é detectado com maior frequência em organismos poliploides. Nesses organismos, a deficiência de um cromossomo não chega a ser letal pelo fato de que os demais cromossomos que apresentam homologia completa ou parcial - **cromossomos homeólogos** - suprem a deficiência. Isso ocorre, por exemplo, no trigo, onde o número básico de cada um dos três genomas é de 7 cromossomos. Assim, temos cromossomos numerados de 1 a 7 para o genoma A - 1A... 7A-, o mesmo ocorrendo para os demais genomas - 1B... 7B e 1D... 7D. Se faltar, por exemplo, um cromossomo 2A, os homeólogos 2B e 2D podem suprir sua falta.

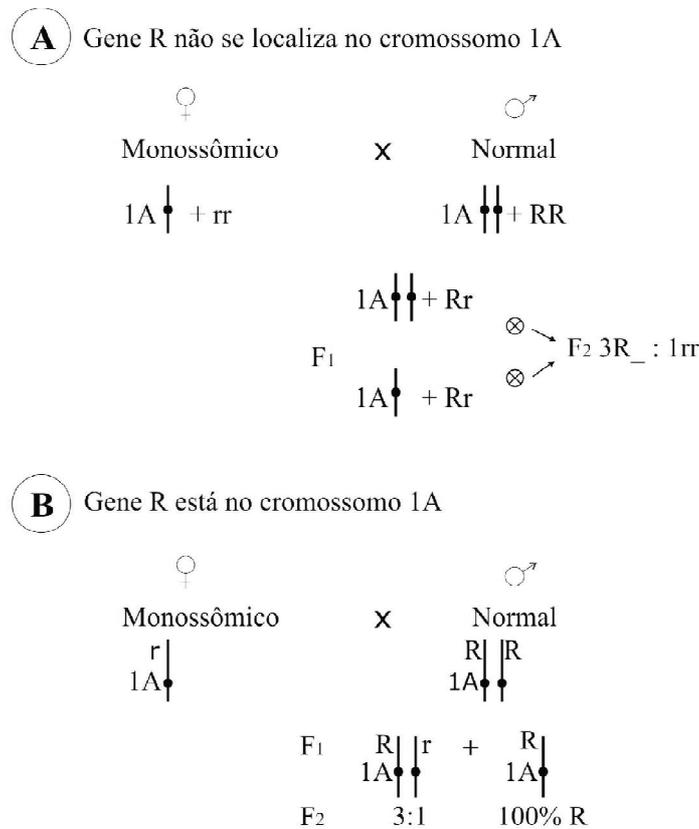
Os monossômicos têm sido extensivamente utilizados no melhoramento dessa espécie com a finalidade de se realizarem substituições cromossômicas. Essa técnica consiste em substituir um simples cromossomo ou um par de cromossomos por outros de variedades diferentes ou mesmo espécies ou gêneros, por meio de retrocruzamentos sucessivos. Um dos objetivos da substituição cromossômica é assegurar que os vários alelos favoráveis, que se localizam em um mesmo cromossomo, sejam integralmente transferidos para a cultivar a ser melhorada. Mediante essa técnica foi possível, por exemplo, transferir alelos para resistência à ferrugem estriada do trigo (*Puccinia striiformis*) da cultivar Bersee para outros genótipos promissores.

Para fornecer informações a respeito da localização de genes em cromossomos específicos, têm se utilizado também monossômicos. Para se determinar em qual dos cromossomos se encontra o gene de interesse, um indivíduo monossômico é cruzado com outro normal. Por exemplo, suponhamos que dispomos de uma série monossômica em trigo da seguinte forma:  $20'' + 1A$ ;  $20'' + 1B$ ;  $20'' + 1D$ ;...;  $20'' + 7A$ ;  $20'' + 7B$ ;  $20'' + 7D$ , onde  $20'' + 1A$  é um indivíduo com 20 bivalentes ( $20''$ ) mais uma cópia do cromossomo 1A, ou seja, ele possui 41 cromossomos, em vez dos 42 normalmente encontrados nessa espécie. Ao se cruzar o primeiro monossômico da série acima com um indivíduo normal, poderemos obter um dos resultados apresentados na Figura 14.4.

Uma desvantagem desse método para localizar genes em cromossomos específicos é a necessidade de se ter à disposição a série monossômica para todos os cromossomos da espécie em estudo. Essas séries monossômicas completas já estão disponíveis para o trigo, aveia e fumo.

**Trissômicos** são organismos que apresentam um dos cromossomos em triplicata, em vez de tê-lo em dose dupla, como nos organismos normais, ou seja,  $2n = 2x + 1$ . Geralmente, os trissômicos de uma espécie diferem fenotipicamente dos indivíduos normais por apresentarem

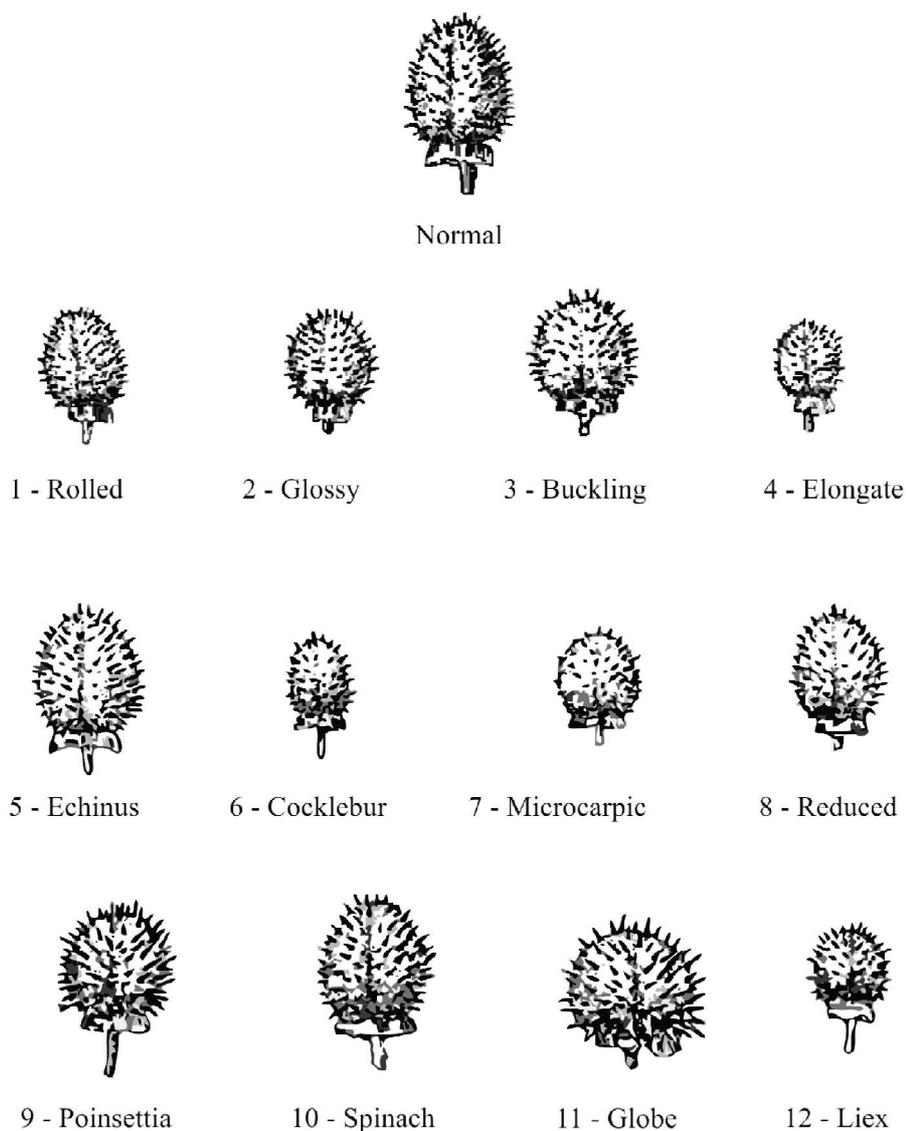
uma mudança no balanço gênico decorrente da adição de um cromossomo. Evidentemente, o tipo de mudança fenotípica depende dos genes presentes no cromossomo, o que significa que o número de trissômicos é igual ao número básico de cromossomos da espécie. Por exemplo, em *Datura stramonium* o número somático de cromossomos é  $2n=2x=24$ , existindo, portanto, 12 trissômicos fenotipicamente diferentes (Figura 14.5). Em certas espécies, tais como trigo, fumo e outras, as diferenças fenotípicas entre os trissômicos não são muito marcantes, devendo a identificação dos mesmos ser feita pela análise dos cromossomos.



**FIGURA 14.4.** Localização de genes pelo emprego de linhas monossômicas: A) se o gene não se localiza no cromossomo em falta, o resultado da F<sub>2</sub> proveniente de todas as plantas F<sub>1</sub> serão idênticos; B) se o gene em apreço estiver no cromossomo em falta, a F<sub>2</sub> proveniente de plantas F<sub>1</sub> monossômicas dará apenas um fenótipo. É fácil deduzir que se o alelo dominante estiver na linha monossômica a localização do gene poderá ser feita na geração F<sub>1</sub> a qual apresentará algumas plantas com fenótipo recessivo.

Nos trissômicos, há três homólogos de um cromossomo potencialmente capazes de se parearem. Entretanto, o pareamento ocorre apenas entre dois dos homólogos em qualquer ponto ao longo dos cromossomos, como já foi visto no início desse capítulo. A principal fonte de origem de trissômicos são os cruzamentos de triploides com diploides. No entanto,

o fenômeno da não disjunção é também responsável por boa parte dos trissômicos que surgem naturalmente (Figura 14.3b). Os trissômicos têm sido utilizados com sucesso para a localização de genes em cromossomos específicos, da mesma forma como foi descrito para os monossômicos. De fato, esse parece ser o principal tipo de aneuploide usado com essa finalidade e tendo sido empregado em *Datura*, milho, espinafre, cevada, tomate e *Petunia*. A metodologia é semelhante à dos monossômicos, sendo que uma segregação atípica em  $F_2$  demonstra o grupo de ligação em que o gene em estudo se localiza.



**FIGURA 14.5.** Trissômicos em *Datura stramonium*. Observe os diferentes fenótipos dos frutos que correspondem a cada um dos cromossomos adicionais, identificados pelos números. (Adaptado de Schulz-Schaeffer, 1980).

Além dos aneuploides discutidos aqui, existem outros que recebem denominações específicas, de acordo com os cromossomos em falta ou excesso. Na Tabela 14.1, são apresentados alguns exemplos.

**TABELA 14.1.** Denominações de alguns aneuploides e suas constituições cromossômicas, de um diploide  $2n=2x=8$ .

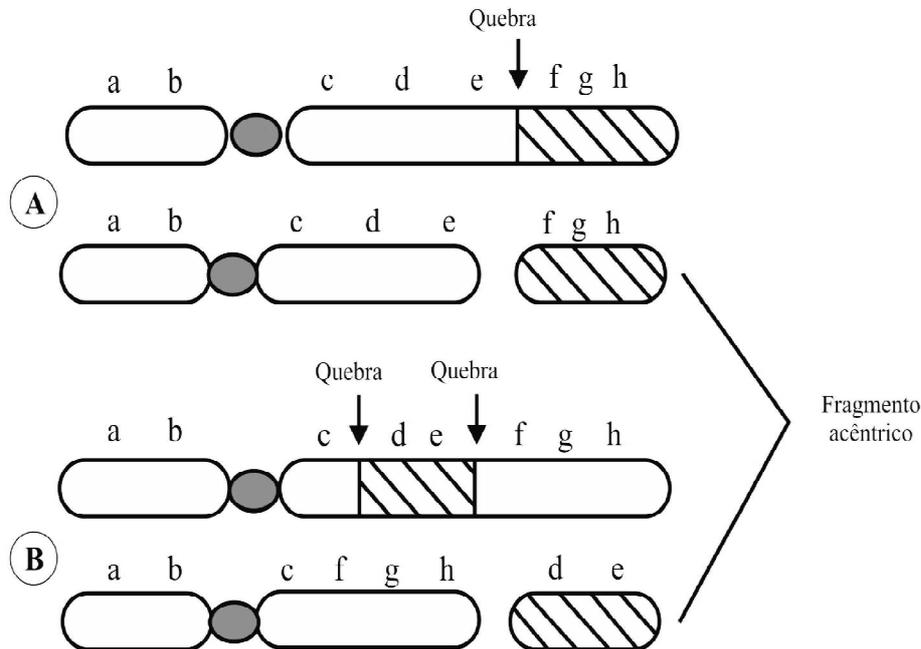
Aneuploides	Constituição cromossômica	Esquema dos cromossomos			
		XX	XX	XX	XX
Nulissômico	$2n = 8 - 2$	XX	XX	XX	
Monossômico	$2n = 8 - 1$	XX	XX	XX	X
Monossômico duplo	$2n = 8 - 1 - 1$	XX	XX	X	X
Trissômico	$2n = 8 + 1$	XX	XX	XX	XXX
Trissômico duplo	$2n = 8 + 1 + 1$	XX	XX	XXX	XXX
Tetrassômico	$2n = 8 + 2$	XX	XX	XX	XXXX
Monossômico-trissômico	$2n = 8 - 1 + 1$	XX	XX	X	XXX

### 14.3 ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS ESTRUTURAIS

A comparação de cariótipos de indivíduos pertencentes a espécies relacionadas ou a populações isoladas dentro de uma espécie, tem mostrado que eles podem diferir na estrutura dos cromossomos. Esta variação pode ocorrer espontaneamente, em decorrência de radiações naturais, mas o fato é que, na maioria das vezes, a sua causa é obscura. São vários os tipos de alterações que podem ocorrer, no entanto a maioria delas é deletéria e, desse modo, é eliminada pela seleção natural. Serão tratados aqui aqueles tipos de aberrações estruturais mais comumente encontrados, os quais são classificados em: Deficiência (Deleção); Duplicação; Inversão e Translocação.

#### 14.3.1 Deficiência - Deleção

Deficiências são alterações que correspondem à quebra de fragmentos cromossômicos e sua conseqüente perda. Essas perdas ocorrem pelo fato de que o fragmento quebrado é desprovido de centrômero, não podendo, portanto, segregar normalmente para um dos polos durante a anáfase. As deficiências podem ser **terminal**, havendo apenas uma quebra e perda da extremidade normal do cromossomo – telômero - bem como **intersticial**, sendo, nesse caso, necessária a ocorrência de duas quebras e perda do segmento intercalar (Figura 14.6).



**FIGURA 14.6.** Esquema das deficiências: A) terminal; B) intersticial.

Como pode ser observado na Figura 14.6, as informações genéticas contidas no fragmento acêntrico são perdidas. Por essa razão é que apenas os indivíduos portadores de deficiências pequenas, isto é, aquelas que envolvem apenas poucos genes, é que conseguem sobreviver. As deficiências maiores geralmente causam a morte da célula, ou então impedem a reprodução sexuada do indivíduo afetado. Quando a perda do fragmento cromossômico resulta na perda do alelo dominante em um indivíduo heterozigoto para aquele gene, o alelo recessivo remanescente pode se expressar fenotipicamente, dando a ideia de ter um efeito dominante. Esse fenômeno é denominado **pseudodominância** e pode ser empregado em certas situações para se localizar o grupo de ligação a que pertence o referido gene. Em milho, por exemplo, o gene *Pl* que controla a cor da planta, foi localizado no cromossomo número 6, usando-se o fenômeno da pseudodominância. Para isso, grãos de pólen, provenientes de uma planta de constituição *yyPIPl*, foram irradiados com raios X e usados para polinizar plantas *YYplpl* (Figura 14.7).

As duas plantas de sementes amarelas e de cor verde foram analisadas citologicamente, sendo constatado que possuíam uma deficiência no braço longo de um dos cromossomos 6.

Portanto, essa deficiência deve envolver o alelo *Pl*, permitindo assim a expressão do alelo recessivo *pl*. Verificou-se, também, nesse estudo que cerca de 54% dos grãos de pólen foram abortados e que, portanto, deveriam conter deficiências de segmentos maiores.

	♀	♂
P: Genótipos	YY p1p1	yy P1P1
Gametas	Y p1	yP1 ← raio X
F <sub>1</sub> : Genótipos:	732YyP1p1	2Yyp1
Fenótipos:	Sementes Amarelas Plantas púrpuras	Sementes amarelas Plantas verdes

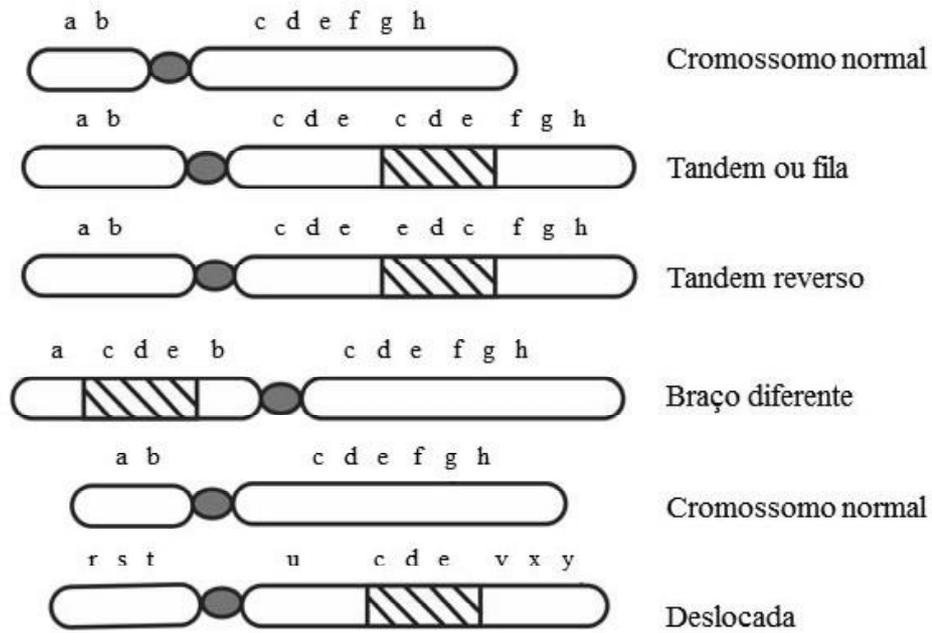
**FIGURA 14.7.** Manifestação da pseudodominância na geração F<sub>1</sub> proveniente do cruzamento de plantas homocigóticas de milho, decorrente da deficiência cromossômica causada pelo tratamento do pólen com raios X.

### 14.3.2 Duplicações

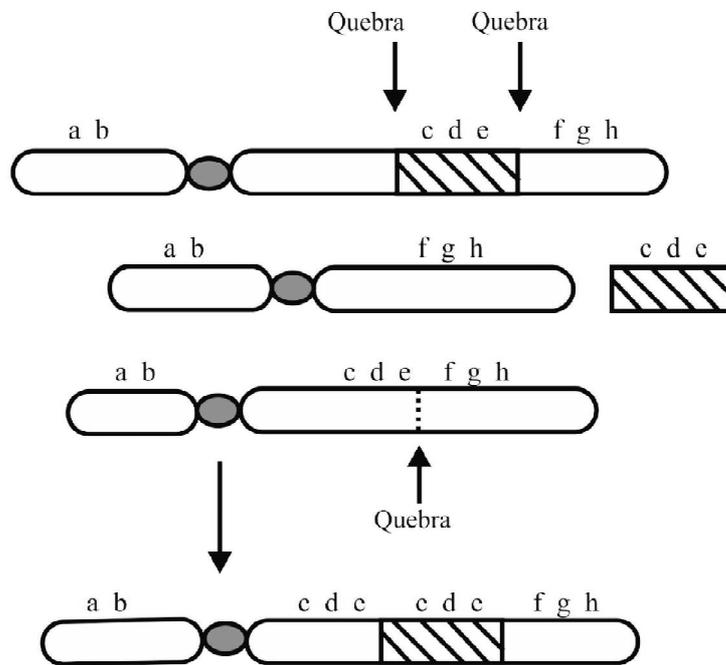
Duplicações são mudanças estruturais que se referem a ganhos extras de segmentos cromossômicos. Elas podem ocorrer de várias maneiras e recebem denominações específicas (Figura 14.8).

As duplicações cromossômicas podem ocorrer de diferentes modos. O primeiro deles é por meio de duas quebras em um cromossomo normal, resultando em um fragmento acêntrico. Em seguida, pode ocorrer uma terceira quebra, no cromossomo homólogo ou em outro qualquer, acompanhada da inserção do fragmento acêntrico (Figura 14.9). Um segundo modo de surgir duplicações é por meio de permuta genética desigual. Nesse caso, o pareamento dos cromossomos homólogos é menos específico, principalmente onde ocorre DNA altamente repetitivo, permitindo a troca de segmentos não completamente correspondentes (Figura 14.10). Finalmente, as duplicações podem surgir em decorrência da permuta genética em indivíduos heterocigóticos para uma inversão ou translocação.

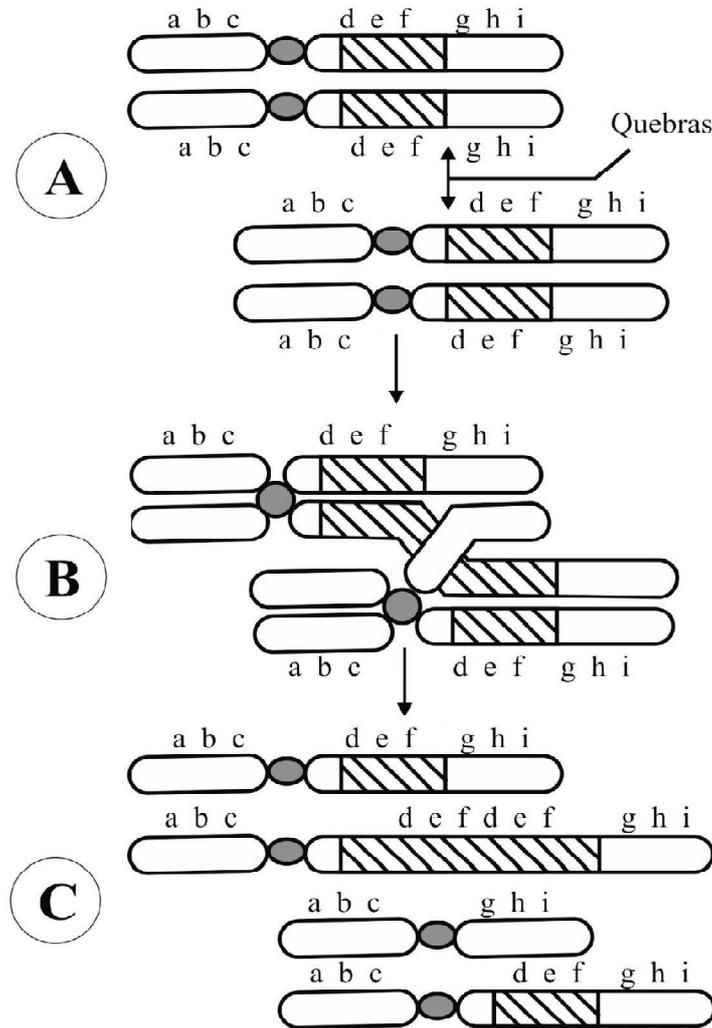
Em geral, as duplicações são menos deletérias que as deficiências, pelo fato de aqui não haver perda de informações genéticas. No entanto, tem sido verificado que as duplicações, apesar de mais toleradas pelos organismos, podem provocar alterações marcantes no fenótipo. Em algumas espécies de plantas, existem evidências genéticas que sugerem a presença de duplicação. Tais duplicações dão origem aos chamados genes poliméricos, que possuem efeitos iguais e cumulativos e que segregam na geração F<sub>2</sub> na razão de 15:1 (Capítulo 6). Um outro efeito fenotípico que geralmente está relacionado com as duplicações é o chamado efeito de posição, que resulta em um fenótipo alterado, em razão da nova posição que o(s) gene(s) ocupa(m) no cromossomo. Um exemplo interessante é o que ocorre no milho e que foi descoberto por Barbara McClintock, em 1953. Seu trabalho envolveu basicamente a modificação fenotípica de alelos para a cor dos grãos de milho em função da sua desativação, decorrente da inserção, próximo a eles, de segmentos duplicados. Essas modificações fenotípicas ocorriam de tal modo que os grãos apresentavam-se manchados.



**FIGURA 14.8.** Esquema de quatro diferentes tipos de duplicações. Note que em todos os casos o segmento duplicado é o “cde”.



**FIGURA 14.9.** Esquema da ocorrência de duplicação por meio da quebra cromossômica e reunião do fragmento acêntrico.



**FIGURA 14.10.** Duplicação cromossômica proveniente de permuta desigual: A) observe que o pareamento dos cromossomos homólogos não é perfeito; B) a permuta entre estes cromossomos homólogos resulta na troca de segmentos não completamente correspondentes; C) em consequência são produzidos cromossomos com regiões deficientes e duplicadas.

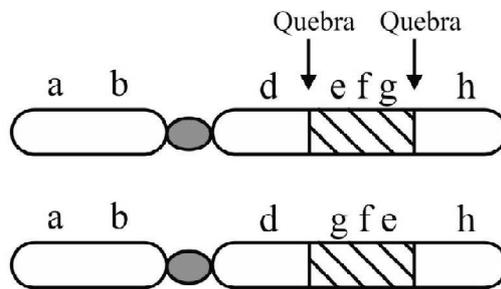
### 14.3.3 Inversões

As inversões são, provavelmente, o tipo mais comum de aberração cromossômica encontrada em populações naturais. Um cromossomo invertido é aquele cuja sequência de genes se encontra em ordem invertida, em relação ao cromossomo normal. Isso pode ocorrer, por exemplo, quando um mesmo cromossomo sofre duas quebras e o fragmento quebrado é reinserido na posição original, porém em ordem inversa. Como ilustrado na Figura 14.11, existem dois tipos principais de inversões que consideram a posição das quebras em relação ao centrômero. **Inversão paracêntrica** as duas quebras se dão no mesmo braço do

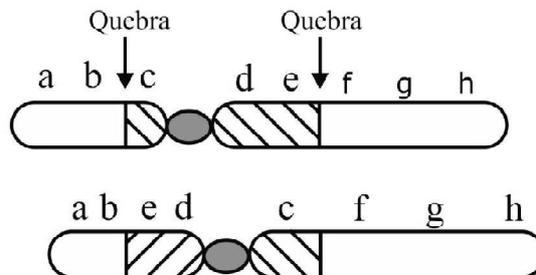
cromossomo, ou seja, o centrômero fica fora da inversão, e **pericêntrica** cada quebra se dá em um braço diferente, neste caso, envolve o centrômero.

Ao contrário das deficiências e duplicações, as inversões não causam nenhuma mudança na quantidade de material genético e, dessa forma, geralmente não estão associadas com alterações fenotípicas. Conseqüentemente, indivíduos com cromossomos invertidos não podem, via de regra, ser distinguidos de indivíduos normais. Contudo, em razão da mudança de posição de alguns genes, a ocorrência de alterações fenotípicas não deve ser descartada.

**(A)** Inversão paracêntrica



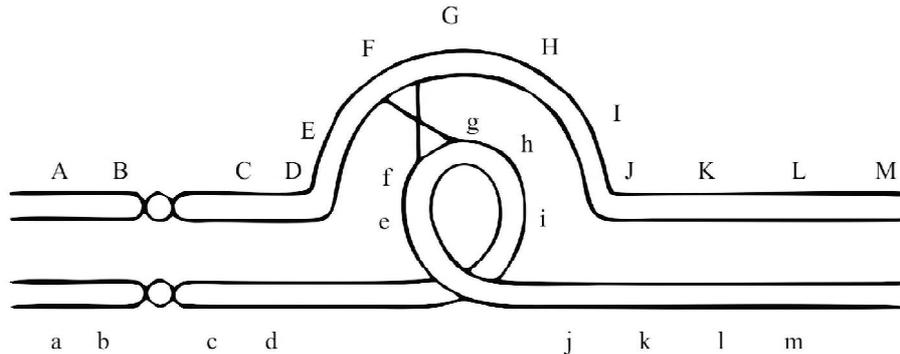
**(B)** Inversão pericêntrica



**FIGURA 14.11.** Esquema de formação de uma inversão paracêntrica (A) e uma inversão paricentrica (B). Note que em (A) o centrômero se encontra fora da região invertida, enquanto que em (B) o centrômero foi envolvido na inversão.

Uma característica que geralmente está associada à inversão é a esterilidade parcial. A razão disso é explicada pelo comportamento cromossômico durante a meiose. Por exemplo, se um indivíduo é heterozigótico para uma inversão, durante o paquíteno pode haver o pareamento entre os cromossomos homólogos, sendo necessária para isso a formação de uma alça no cromossomo invertido (Figura 14.12). Admitindo a ocorrência de apenas uma permuta, como mostrado na Figura 14.12, na anáfase I, com a separação dos homólogos

para os pólos opostos, o cromossomo dicêntrico resultante formará uma ponte. Além disso, haverá também a formação de um fragmento acêntrico (Figura 14.13). Ao final da anáfase I teremos o rompimento da ponte em um ponto qualquer. Após a anáfase II, com a segregação das cromátides, teremos a formação de quatro células (Figura 14.13).

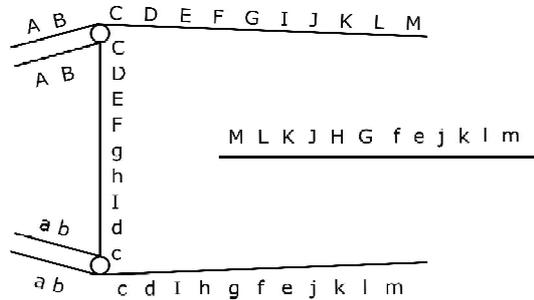


**FIGURA 14.12.** Pareamento cromossômico envolvendo uma inversão paracêntrica. Observe que o cromossomo invertido forma uma alça, possibilitando completa homologia com o cromossomo normal. O X mostra a ocorrência de uma permuta entre F e G.

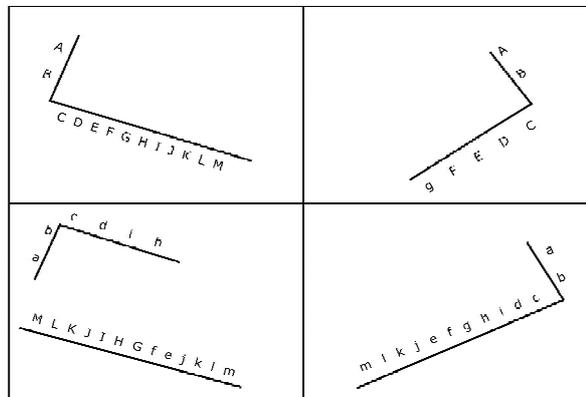
Como se observa, das quatro cromátides resultantes uma é perfeitamente normal, outra apresenta uma região invertida e as demais são deficientes para determinados segmentos e duplicadas para outros. Em função disso, os gametas que receberem essas cromátides anormais serão abortados, resultando em esterilidade. É importante salientar que a não ocorrência de permuta genética resulta apenas em cromátides normais ou invertidas, sendo todos os gametas viáveis. No caso das inversões pericêntricas, não há a formação de pontes ou fragmentos acêntricos em qualquer uma das divisões meióticas. Entretanto, haverá a formação de cromátides deficientes e duplicadas e, conseqüentemente, de gametas inviáveis.

Um outro efeito de inversões heterozigóticas é a alteração nas frequências de recombinação entre os genes envolvidos no segmento invertido ou próximo dele. Isso ocorre porque, ao se formar a alça de inversão (Figura 14.12), as permutas genéticas são drasticamente reduzidas. Além disso, como pode ser observado na Figura 14.13, as cromátides permutadas são aquelas que formam o fragmento acêntrico ou apresentam dois centrômeros. Como já foi comentado, essas cromátides apresentam regiões deficientes ou duplicadas, gerando assim gametas inviáveis. Como resultado desses acontecimentos, os gametas viáveis são aqueles que não sofreram permuta e possuem, portanto, a mesma constituição genética original. Assim, as combinações gênicas são mantidas como um único bloco e não tendem a se separar.

A) Anáfase I



B) Anáfase II



**FIGURA 14.13.** Consequências meióticas em um indivíduo heterozigótico para uma inversão paracêntrica e apresentando uma permuta no segmento invertido: A) anáfase I - observe a ponte formada pelo cromossomo dicêntrico e também o fragmento sem o centrômero (acêntrico); B) anáfase II - note que duas cromátides possuem todas as informações genéticas enquanto as outras duas são deficientes e/ou duplicadas. O fragmento acêntrico geralmente é perdido.

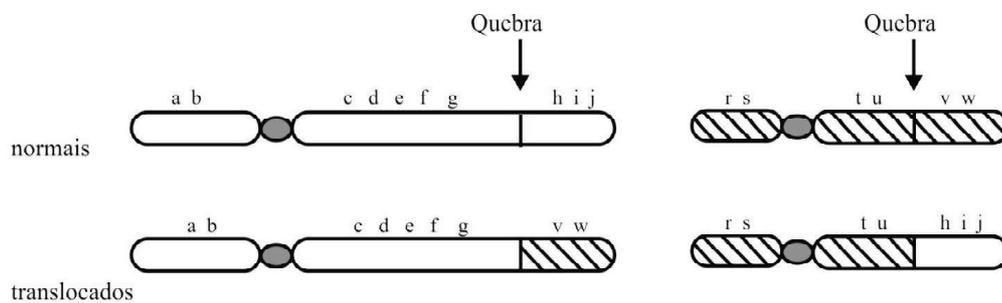
Finalmente, deve-se salientar que os efeitos das inversões aqui descritos se referem apenas àqueles indivíduos heterozigóticos para essa aberração cromossômica. Quando o indivíduo é homozigótico, isto é, ambos os homólogos apresentam o mesmo segmento invertido, o pareamento cromossômico é perfeito, não havendo assim nenhuma anormalidade. Deve ser enfatizado também que a mitose em indivíduos heterozigóticos para uma inversão é completamente normal pelo fato de que cada cromossomo passa pelo processo sem ter de se associar com seu homólogo. Em outras palavras, cada cromossomo é independente dos demais, até mesmo de seu homólogo.

#### 14.3.4 Translocações

As translocações são mudanças estruturais que envolvem a transferência de um segmento cromossômico para outro cromossomo não homólogo. O tipo mais comum é a translocação

recíproca, que corresponde a uma troca mútua de fragmentos entre dois cromossomos não homólogos (Figura 14.14).

De modo análogo às inversões, as translocações também não provocam alterações no conteúdo gênico dos indivíduos portadores. Dessa forma, torna-se difícil a distinção fenotípica entre esses indivíduos e os normais, a não ser pelo fato de que indivíduos heterozigóticos para uma translocação recíproca são parcialmente estéreis. Diz-se que um indivíduo é heterozigótico para uma translocação recíproca quando este possui dois cromossomos translocados, sendo seus homólogos perfeitamente normais. Como veremos a seguir, a causa da esterilidade parcial deve-se também ao comportamento dos cromossomos durante a meiose.

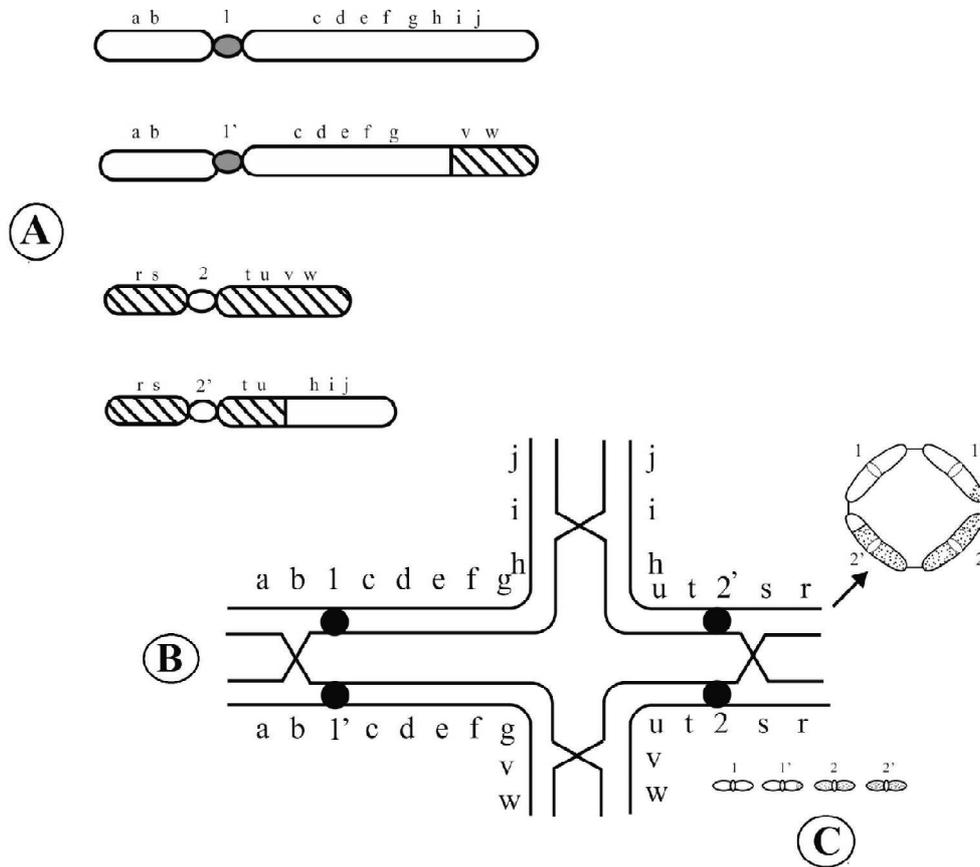


**FIGURA 14.14.** Esquema de uma translocação recíproca. Observe que ocorrem duas quebras e os fragmentos acêntricos se ligam aos cromossomos não homólogos.

Em um indivíduo heterozigótico, para uma translocação recíproca há quatro cromossomos potencialmente capazes de se parear. Esses cromossomos apresentam uma configuração em cruz durante o paquíteno e que pode permanecer até o diplótenu (Figura 14.15). Na diacinese, após a terminalização dos quiasmas, isto é, após os quiasmas serem detectados nas extremidades dos cromossomos, podem-se formar diferentes figuras, como, por exemplo, um anel ou uma cadeia de quatro cromossomos (Figura 14.15).

Durante a metáfase, os cromossomos podem se orientar para os polos de diversas maneiras, de acordo com a posição ocupada pelos quatro centrômeros. Essas orientações são: a) Alternada - 1; b) Alternada - 2; c) Adjacente - 1; d) Adjacente - 2; e) Não coorientação, e são representadas na Figura 14.16. Nas orientações alternadas, os centrômeros dos cromossomos normais - 1 e 2 - estão voltados para um mesmo pólo, enquanto os centrômeros dos cromossomos translocados - 1' e 2' - se voltam para o polo oposto. Já, nas orientações adjacentes, os centrômeros de um cromossomo normal e um translocado se dirigem para um mesmo polo - 1' e 2 vs 1 e 2' ou ainda 1 e 1' vs 2 e 2'. No caso das orientações alternadas - 1 e 2 e adjacente - 1, os centrômeros homólogos dirigem-se para polos opostos, enquanto na orientação adjacente - 2 os centrômeros homólogos dirigem-se para o mesmo polo. A não coorientação se refere à situação em que dois

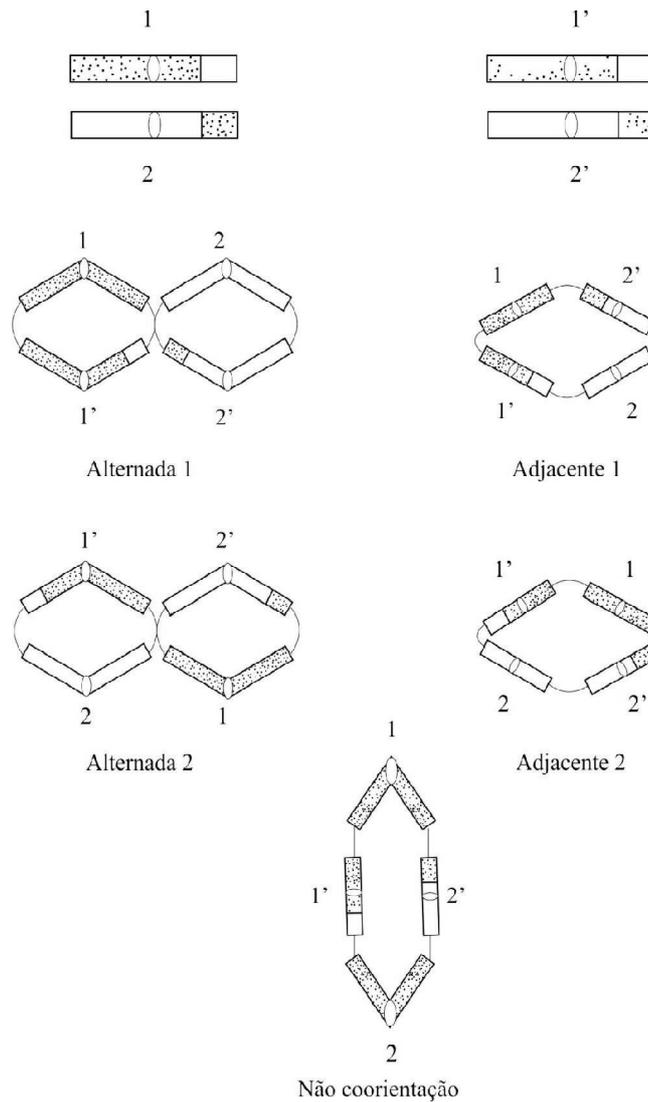
centrômeros se dirigem para polos opostos, enquanto os outros dois não se orientam e, aparentemente, não são ligados às fibras do fuso.



**FIGURA 14.15.** A) Indivíduo heterozigótico para uma translocação recíproca. Os números 1 e 2 marcam os centrômeros dos cromossomos não homólogos normais e 1' e 2' os centrômeros de seus homólogos translocados; B) no paquíteno o pareamento desses quatro cromossomos assume uma forma de cruz; C) dependendo do número e posição dos quiasmas, na diacinese são formadas figuras em forma de anel ou cadeia de quatro cromossomos.

Observa-se, na Figura 14.16, que somente as orientações alternadas possibilitam a formação de gametas viáveis, uma vez que, nesses casos, todas as informações genéticas estarão contidas nos mesmos. Por outro lado, as orientações adjacentes conterão informações deficientes e duplicadas, dando origem a gametas inviáveis e que serão abortados. Assim sendo, o grau de esterilidade de um indivíduo qualquer irá depender da relação entre células que apresentam cromossomos em orientação alternada e adjacente. Em muitas espécies, a proporção de gametas férteis e abortados é próxima de 1:1, indicando que aquelas orientações ocorrem em igual número. Em outras espécies, como por exemplo cevada, o grau de

esterilidade é bem menor em decorrência de um tipo preferencial de orientação, ocorrendo cerca de 70% a 95% do tipo alternada. Tem sido verificado que fatores tais como, comprimento dos cromossomos, posição dos pontos de quebra, número e posição dos quiasmas e posição do centrômero, influenciam o tipo de orientação e, conseqüentemente, o grau de esterilidade.



**FIGURA 14.16.** Tipos de orientação cromossômica de indivíduos heterozigóticos para uma translocação recíproca. Os números 1 e 2 marcam os centrômeros dos cromossomos não homólogos normais e 1' e 2' os centrômeros de seus homólogos translocados.

**BOX 14.1. ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS EM ANIMAIS**

Alguns exemplos de aneuploidias dos cromossomos sexuais e autossomos e suas consequências fenotípicas em animais domésticos (Adaptado de NICHOLAS, 1999).

Cariótipo	Espécie	Consequências fenotípicas
37,X	Suínos	Intersexualidade; hipoplasia ovarina
63,X	Equinos	Hipoplasia ovarina
37,X	Gatos	Morte antes da puberdade
63,X/64,XX	Equinos	Hipoplasia ovarina
37,X/38,XX,38XY	Suínos	Intersexualidade
61,XXX	Bovinos	Nenhuma, ou hipoplasia ovarina
63,XXX	Equinos	Infertilidade
61,XXY	Bovinos	Hipoplasia testicular
55,XXY	Ovinos	Hipoplasia testicular
39,XXY	Suínos	Hipoplasia testicular
79,XXY	Cães	Hipoplasia testicular
39,XXY	Gatos	Hipoplasia testicular
61,XXY/60,XY	Bovinos	Hipoplasia testicular
61,XXY/60,XX	Bovinos	Intersexualidade
39,XXY/38,XX	Suínos	Intersexualidade
65,XXY/64,XX	Equinos	Intersexualidade
39,XXY/38,XX	Gatos	Hipoplasia testicular
61,XXY/60,XX/60,XY	Bovinos	Hipoplasia testicular
61,XXY/60,XY/59,X	Bovinos	Hipoplasia testicular
65,XXY/64,XY/64,XX/63,X	Equinos	Criptorquidismo
66,XXXY	Equinos	Intersexualidade
61,XY/60,XY	Bovinos	Nenhuma

**BOX 14.2. ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS EM BOVINOS**

Os bovinos (*Bos taurus*) possuem 60 cromossomos, sendo 29 pares de autossomos e um par de cromossomos sexuais: XX nas fêmeas e XY nos machos. Apresenta-se o cariótipo dos bovinos como 60+XX ou 60+XY, caso seja fêmea ou macho, respectivamente.

Todos os cromossomos autossômicos são **acrocêntricos**. O cromossomo X é **submetacêntrico** e o cromossomo Y é **acrocêntrico** na raça Nelore e **submetacêntrico** nas outras raças. O X é bem maior que o Y.

**Aberrações Cromossômicas Numéricas**

Se, em uma das células que sofrer o processo de meiose, ocorrer **não disjunção cromossômica**, isto é: (1) um par de cromossomos homólogos não se separar na anáfase I ou (2) as cromátides irmãs de um cromossomo não se separarem na anáfase II, poderá resultar na formação de dois gametas com 31 cromossomos e dois gametas com 29 cromossomos. Ambos numericamente incorretos e com centenas de genes a mais ou a menos, respectivamente.

O bezerro que se desenvolver de um espermatozoide ou de um óvulo com 29 cromossomos terá uma **monossomia**, isto é uma única cópia de um determinado cromossomo, ao invés dos dois homólogos normais, e morre muito precocemente durante a gestação. O bezerro que se desenvolver de um espermatozoide ou de um óvulo com 31 cromossomos terá uma **trissomia**, isto é, três cópias de um determinado cromossomo, ao invés dos dois homólogos normais, e morrerá um pouco mais adiante, ainda durante o período gestacional.

O processo de espermatogênese no touro, dura cerca de 60 dias, inicia na puberdade e continua até uma idade relativamente avançada. A ovogênese nas vacas inicia no período fetal e interrompe um pouco antes do nascimento. Fica suspenso até a puberdade e não se completa até que haja a fertilização, quando o terceiro corpúsculo polar é formado e expulso. Esse longo processo de meiose suspensa, provavelmente faz com que as ovogônias sejam mais suscetíveis a apresentar alterações cromossômicas numéricas do que os espermatozoides. A taxa de anomalia parece começar a ser exponencial a partir da idade de 9 anos da vaca, no entanto, o risco não é maior que 1% (SCHMUTZ, 2003).

A maioria das anomalias numéricas dos cromossomos sexuais não é letal, mas afeta a fertilidade. Um dos poucos casos de letais é o da monossomia do cromossomo sexual, em que o cromossomo sexual recebido é o Y (cariótipo 59,Y). Nesse caso, o feto é abortado, porque a falta dos genes do cromossomo X é essencial à vida.

Uma novilha com cariótipo  $59+X$  sobrevive, mas é estéril, pois terá somente gônadas em fita, tipo embrionárias e não ovários, portanto não ovulará. Essa é uma condição semelhante à Síndrome de Turner na espécie humana. O bezerro com cariótipo  $61+XXY$  tem hipoplasia testicular, isto é, testículos pequenos e usualmente é estéril, mas eventualmente pode ser normal. Essa anomalia é semelhante à Síndrome de Klinefelter da espécie humana.

Vacas com cariótipo  $61+XXX$  são férteis e podem originar bezerros com cariótipos normais ou com  $61+XXY$ .

### **Aberrações Cromossômicas Estruturais**

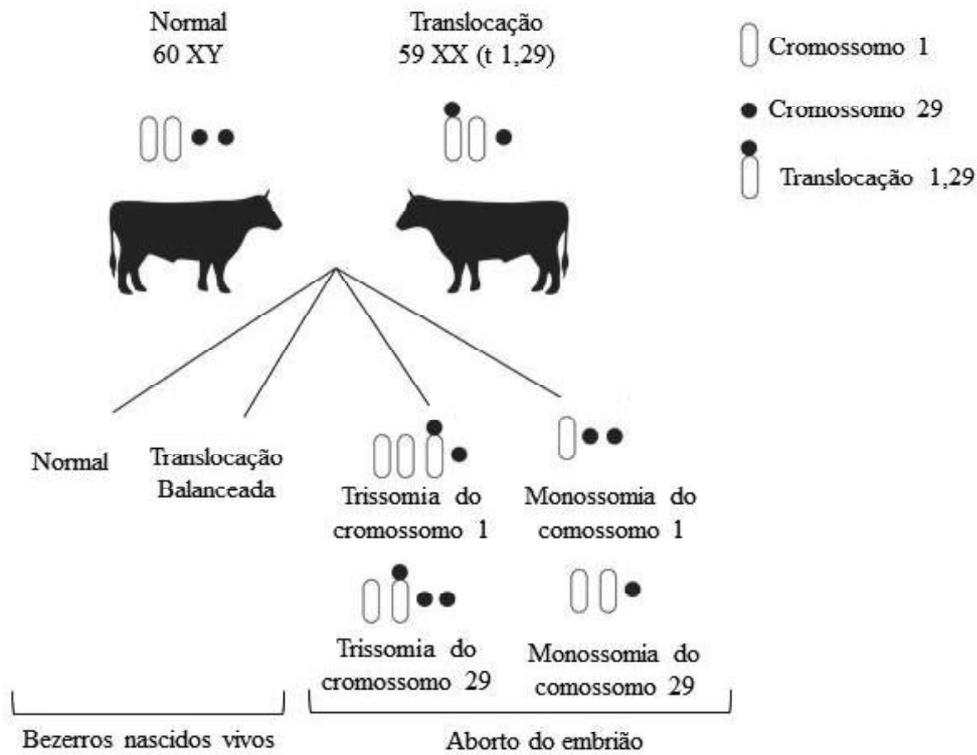
**Translocações:** em decorrência de serem os cromossomos autossômicos todos acrocêntricos, é muito comum a ocorrência de translocações do tipo Robertsoniana ou fusão cêntrica, ou seja, dois cromossomos acrocêntricos perdem seus braços curtos e se unem próximo à região centromérica, formando um único cromossomo derivado. Por exemplo, o mais comum no gado bovino é a fusão entre os cromossomos 1 (o maior do cariótipo) e 29 (o menor do cariótipo), essa translocação é indicada como **t(1;29)**. Como essa translocação não altera a constituição genética, apenas o rearranja, diz-se que é uma translocação equilibrada.

Como o cromossomo 1 e o cromossomo 29 fusionaram-se, a contagem cromossômica passa a ser de 59 e não mais de 60 cromossomos, mas o animal portador dessa translocação equilibrada tem as mesmas características dos animais normais, no entanto, sua fertilidade fica bastante diminuída.

Essa translocação parece ocorrer na maioria do gado de corte que veio da Europa para cruzamento. Tudo indicada que é uma alteração cromossômica bastante antiga ou que surgiu ao longo da evolução, ou ambas (SCHMUTZ, 2003).

Os resultados obtidos do cruzamento entre um animal normal com outro com translocação normal do tipo Robertsoniana  $1/29$  é o seguinte:

Aberrações Cromossômicas



Além da translocação Robertsoniana **t(1,29)** existem outras que ocorrem em bovinos. A segunda mais comum é a **t(14;20)**, que é observada quase que unicamente na raça Simmental, mesmo assim, em apenas 1% dessa raça.

### PROBLEMAS PROPOSTOS

1. Em espécies do gênero *Fragaria* - morango - o número básico de cromossomos é  $x = 7$ . Existem morangos diploides, tetraploides, hexaploides e octaploides.
  - a) Qual o número somático de cromossomos dessas espécies?
  - b) Como proceder para determinar se essas espécies são auto ou aloploiploides?
  
2. Uma espécie diploide  $2n = 2x = 18$  foi tratada com colchicina para obtenção de autopoliploides.
  - a) Quantos cromossomos são esperados nas células somáticas dos poliploides resultantes de uma, duas e três mitoses sucessivas, na presença desse alcaloide?
  - b) Como atua a colchicina?
  
3. O trigo comum (*Triticum aestivum*) é uma espécie alohexaploide,  $2n = 6x = 42$ . Ela foi obtida naturalmente a partir do cruzamento de três espécies de gramíneas diploides.
  - a) Qual o número de cromossomos nas células somáticas de cada uma dessas espécies diploides?
  - b) Sugira os prováveis cruzamentos que ocorreram para se obter o trigo cultivado.
  
4. Os melhoristas japoneses conseguiram obter melancias triploides, que apresentam a vantagem de não possuírem sementes.
  - a) Sugira a metodologia que deve ter sido utilizada para a obtenção desse triploide.
  - b) Qual a razão de essa melancia não produzir sementes?
  
5. Existem várias espécies diploides do gênero *Brassica* que diferem no número básico de cromossomos, como, por exemplo, *B. nigra* (mostarda preta)  $x = 8$ , *B. oleracea* (repolho)  $x = 9$  e *B. campestris* (nabo)  $x = 10$ . Vários anfidiplóides podem ser obtidos a partir dessas espécies diploides.
  - a) Qual o número somático de cromossomos das espécies diploides mencionadas?
  - b) Qual o número somático de cromossomos do híbrido  $F_1$  proveniente do cruzamento *B. oleracea* x *B. campestris*?
  - c) Ao se proceder a uma análise citológica das anteras desse híbrido, o que será observado: univalentes, bivalentes, trivalentes ou tetravalentes? Por quê?
  - d) Essas plantas  $F_1$  serão férteis ou estéreis? Se as plantas  $F_1$  forem tratadas com

colchicina durante um ciclo celular, quantos cromossomos são esperados nas células somáticas?

e) O alopoliploide obtido será fértil ou estéril? Por quê?

6. Quando se cruza o alopoliploide referido no item (e) do problema 5 com a espécie diplóide *B. nigra*:

a) Qual o número de cromossomos nas células somáticas do anfidiplóide obtido?

b) O que se espera na meiose deste anfidiplóide?

c) Que tipo de alopoliploide será obtido tratando-se o anfidiplóide com colchicina?

7. O endosperma da semente de milho é um tecido triploide formado pela fusão dos dois núcleos polares do saco embrionário com um núcleo generativo do grão de pólen. Quais as constituições genéticas dos endospermas das sementes descendentes a partir dos cruzamentos seguintes?

a) (♀) YY x (♂) yy

b) (♀) yy x (♂) YY

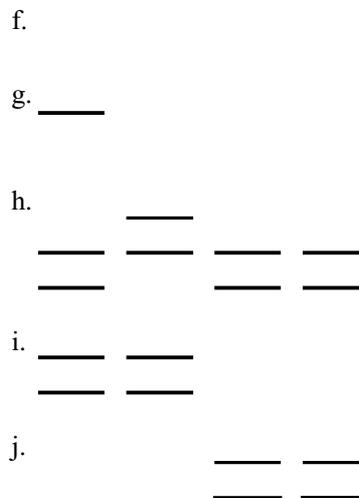
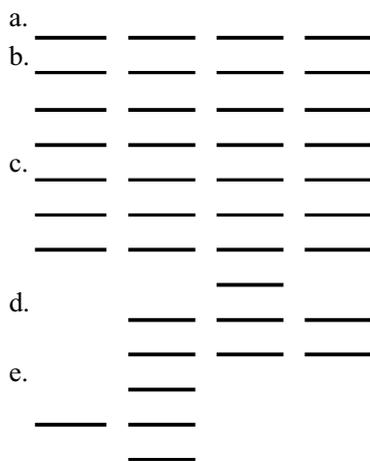
c) (♀) Yy x (♂) yy

d) (♀) Yy x (♂) Yy

8. No milho, o alelo dominante Y condiciona endosperma amarelo e y é responsável pelo endosperma branco. No entanto, em razão de as células do endosperma serem triploides, ocorrem os fenótipos alaranjado, amarelo, amarelo-claro e branco, em função do número de alelos Y. Utilizando os cruzamentos indicados no problema 7 quais as proporções fenotípicas das sementes descendentes de cada um?

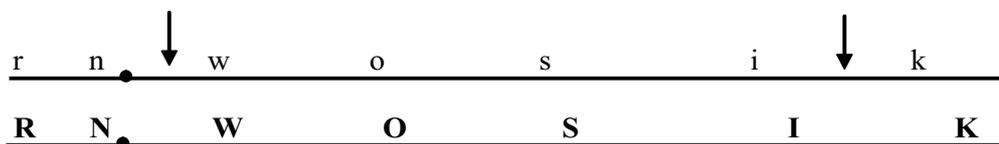
9. Suponha que uma espécie diploide apresente em suas células somáticas 8 cromossomos. Alguns indivíduos foram tratados com uma substância química produzindo descendentes com ampla variação no número de cromossomos. Forneça os nomes corretos dos descendentes representados a seguir: Qual o nome do f?

Genética na Agropecuária



10. A descendência dos cruzamentos testes de duas plantas heterozigóticas de milho apresentou diferentes frequências de recombinação entre os genes *ts* e *su*. Na planta A (normal) a frequência de recombinação foi de 15% e na planta B (anormal) a frequência de recombinação foi de 2%. Essa diferença nas frequências de recombinação ocorreu em razão da inversão ou à deficiência? Justifique sua resposta.

11. O cromossomo 10 do milho de uma planta normal possui, entre outros, os seguintes genes:



Suponha que ocorreu uma quebra entre o centrômero e *w* e outra entre *i* e *k*, dando origem a uma inversão.

- Ilustre o pareamento dos cromossomos na meiose representando as quatro cromátides.
- Considerando a ocorrência de uma permuta entre os genes *O* e *S*, esquematize a anáfase I e a anáfase II.
- Qual porcentagem dos gametas seria funcional?

12. Considere o cromossomo 10 do milho apresentado no problema 11. Se ocorrer uma quebra entre *r* e *n* e entre *o* e *s*, terá origem uma inversão pericêntrica?

- a) Ilustre o pareamento dos cromossomos na meiose, representando as quatro cromátides.
- b) Considerando a ocorrência de uma permuta entre os genes W e O, esquematize a anáfase I e a anáfase II.
- c) Qual porcentagem dos gametas seria funcional?
13. No cultivar Santa Cruz de tomate, os genes A e C afetam a cor do hipocótilo e o formato da folha, respectivamente, e apresentam distribuição independente. No entanto, algumas plantas dessa cultivar apresentaram frequência de recombinação de 12% entre os genes mencionados. Que tipo de aberração cromossômica estrutural poderia explicar esse resultado? Justifique.
14. Suponha que o melhorista de tomate tenha decidido cruzar os dois tipos de plantas do problema 13 com a finalidade de comprovar o tipo de aberração ocorrida. Esquematize o tipo de pareamento que deverá ser observado no paquíteno do descendente desse cruzamento.
15. A partir do cruzamento de uma linhagem de cenoura de raiz amarela (yy) com outra de raiz branca (YY), que foi submetida a radiações ionizantes, foram observadas na  $F_1$  algumas plantas de raiz amarela. Que tipo de aberração cromossômica estrutural poderia explicar esse resultado? Justifique.



# 15 TEORIA SINTÉTICA DA EVOLUÇÃO

## 15.1 INTRODUÇÃO

A grande diversidade entre os organismos é facilmente observada, bastando comparar as espécies que conhecemos, pois já foram descritas cerca de 8,7 milhão de espécies, mas há estimativas de que esse número seja bem superior.

Uma questão que poderia ser formulada é se essa diversidade sempre existiu. Para responder a essa indagação deve-se recorrer às informações disponíveis relativas aos mais antigos fósseis. Essas informações registram que a diversidade existente na natureza era muito menor, ocorrendo apenas alguns tipos de bactérias e algas mais simples. Esses dados ilustram que houve um aumento acentuado da diversidade, o que comprova a ocorrência da evolução.

A definição de evolução pode ser fornecida por vários ângulos. Sob o ponto de vista genético, ela corresponde “a qualquer alteração das frequências alélicas da população, visando a torná-la mais adaptada”. Dessa forma, os enfoques da evolução, que serão discutidos aqui, estarão relacionados aos fatores que alteram as frequências alélicas das populações. Esses fatores são agrupados no que se denomina teoria sintética da evolução e se fundamenta nos seguintes processos: a) Processo que cria variabilidade - mutação; b) Processos que ampliam a variabilidade - recombinação genética, hibridação, alterações na estrutura e no número de cromossomos e migração; c) Processos que orientam as populações para maior adaptação - seleção natural, oscilação genética e isolamento reprodutivo. A seguir serão discutidos sucintamente cada um desses processos, além disso, maiores detalhes podem ser obtidos, entre outros, nas publicações de Stebbins (1970); Dobzansky (1973); Mayr (1977); Strickberger (2000); Ridley (2006).

## 15.2 PROCESSO QUE CRIA VARIABILIDADE – MUTAÇÃO

Como já foi visto (Capítulo 3), a mutação gênica é a fonte original de variação genética e tem como resultado a formação de novos alelos na população. Além de ser um fenômeno raro, é também casual, e, por esta razão, ela não ocorre no sentido de fornecer ao organismo uma maior adaptação. Estima-se que em cada 1.000 mutações uma é provavelmente útil para a evolução e, levando-se em conta o número de mutações que ocorre na vida de um

organismo, apenas uma em um milhão de mutações úteis necessita fixar-se para explicar a intensidade de evolução que vem ocorrendo na população. Apesar dessas estimativas, os evolucionistas estão conscientes de que a mutação sozinha não determina a evolução. Isso se deve ao fato de que as mutações favoráveis geralmente ocorrem em indivíduos diferentes, e é necessário um mecanismo para reuni-las num único indivíduo, para que a adaptação seja realmente incrementada.

O conceito de mutação útil depende de cada população. Em geral, em espécies novas em expansão existe um maior número de mutações úteis, enquanto naquelas mais velhas e melhor adaptadas, um número considerável de mutações já ocorreu e muitas foram aproveitadas, de sorte que inovações promovidas por mutação têm grande chance de serem prejudiciais. As mutações úteis em geral são aquelas que promovem alterações pequenas nas características do organismo. Isso ocorre, porque as espécies já possuem certa adaptação ao seu ambiente e as trocas mais pronunciadas nas características promovem alterações bruscas na adaptação, sendo, normalmente, prejudiciais. Assim, a maioria das mutações úteis é aquela de pequeno efeito e que se acumula gradualmente no organismo, acompanhada de uma vagarosa transição nas características.

## 15.3 PROCESSOS QUE AMPLIAM A VARIABILIDADE

### 15.3.1 Recombinação Genética

Esse processo age no sentido de ampliar a variabilidade genética criada pela mutação gênica e se constitui no mecanismo que permite suprir a população de indivíduos com novas combinações genéticas. Estas são capazes de promover rápida adaptação às mudanças bruscas que venham a ocorrer no ambiente.

Como já foi comentado, a recombinação consiste na formação de combinações novas de alelos, tanto por meio da distribuição independente dos cromossomos não homólogos na meiose, como também por meio da permuta genética. Em consequência, a recombinação permite que um número enorme de genótipos seja formado, mesmo com um pequeno número de genes e poucos alelos em cada. Relembrando o que foi visto em alelismo múltiplo, se o número de genes segregantes é  $n$  e cada um representado por  $m$  alelos, o número de genótipos que pode ser produzido por recombinação é  $[m(m+1)/2]^n$ . Tomando como exemplo o milho que possui  $n = 10$  cromossomos diferentes e considerando apenas um gene por cromossomo com quatro alelos em cada, o número de genótipos diplóides possível é de 10 bilhões.

### 15.3.2 Híbridação

A híbridação é o processo que permite a união de espécies relacionadas o que leva à formação de híbridos interespecíficos. O híbrido oriundo do cruzamento de duas espécies é geralmente estéril e sua fertilidade normalmente só é restabelecida após a duplicação de seus

cromossomos. Além disso, sua adaptação nas condições ambientais existentes nem sempre é imediata. Nessa situação, a melhoria na adaptação é geralmente obtida por meio de retrocruzamentos desses híbridos com os genitores. À medida que os retrocruzamentos ocorrem, os genótipos recombinantes tornam-se mais semelhantes às populações paternas e, assim, ficam mais adaptados. Por esse processo, novos genes e novas combinações de genes são transferidos de uma espécie para outra, aumentando as possibilidades de formar combinações novas de genes e incrementar a variabilidade e adaptação. Esse processo caracteriza o fenômeno da introgressão em plantas. Por exemplo, o milho é uma espécie que possui várias características oriundas por introgressão, de uma gramínea relacionada, o teosinto.

### 15.3.3 Alterações na Estrutura e no Número de Cromossomos

Como os aspectos citológicos sobre esse assunto são apresentados no Capítulo 14, serão feitos aqui apenas alguns comentários relacionando as alterações estruturais e numéricas dos cromossomos com a evolução.

As alterações estruturais dos cromossomos explicam grande parte da variabilidade potencial das populações, que está encoberta na forma de heterozigotos. A inversão e a translocação são as alterações mais importantes para a evolução. O efeito principal da inversão é quando ela ocorre em heterozigose no indivíduo, pois dentro do segmento invertido, a permuta genética não produz recombinantes em razão de os gametas que os recebe serem inviáveis. Assim, todos os genes que ocorrem numa inversão são mantidos sempre juntos, formando um supergene. A translocação altera a relação de ligação entre genes e modifica a frequência de recombinação, pois os genes que eram ligados após a translocação passam a ter distribuição independente e vice-versa. A duplicação, embora menos importante para a evolução do que a inversão e a translocação, contribui para aumentar a variabilidade. Já, a deficiência é de importância relativamente menor, em razão das perdas de material genético que são geralmente letais.

Entre as alterações numéricas, a que apresenta maior contribuição para a evolução é a euploidia. Isso porque ela contribui para o incremento no reservatório gênico. Especialmente no caso das plantas, a euploidia teve um papel preponderante no surgimento de várias espécies, entre elas o trigo, cana-de-açúcar, fumo, batata, café, etc. Essas espécies normalmente têm na sua constituição, cromossomos pertencentes a duas ou mais espécies diferentes, ou então apresentam várias cópias do conjunto cromossômico básico característico da espécie. A espécie nova oriunda desse incremento no reservatório gênico pode possuir características que permitam a sua adaptação em condições ambientais antes não exploradas pelas espécies genitoras. Além disso, em razão da existência de vários complementos cromossômicos, um indivíduo qualquer, dessas espécies, pode possuir vários alelos para cada gene o que possibilita ampliar a variabilidade genética por meio da recombinação.

### 15.3.4 Migração

Como visto em genética de populações (Capítulo 13), a migração corresponde à incorporação de indivíduos - alelos - numa certa população. Conseqüentemente, a nova população terá frequências alélicas diferentes daquelas da população original.

A efetividade da migração depende de sua quantidade e da divergência genética das populações participantes. A quantidade de migração é muito maior em populações próximas do que naquelas distantes geograficamente. Por outro lado, as populações mais próximas são também mais semelhantes geneticamente e a migração não se constitui num instrumento importante de alteração das frequências alélicas. Assim, a migração é muito mais efetiva em populações isoladas, pois as frequências alélicas, via de regra, são mais contrastantes.

## 15.4 PROCESSOS QUE ORIENTAM AS POPULAÇÕES PARA MAIOR ADAPTAÇÃO

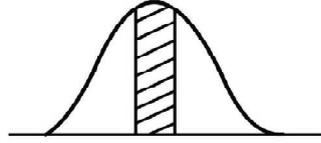
### 15.4.1 Seleção natural

A seleção natural é definida como um sucesso reprodutivo diferencial. O número de indivíduos em qualquer população natural tende a aumentar geometricamente, quando as condições ambientais permitem a sobrevivência de toda a progênie. Porém, o potencial para esse aumento raramente se cumpre, porque ocorre uma competição pela sobrevivência, onde muitos indivíduos não deixam descendentes ou deixam uma quantidade proporcionalmente menor. Essa seleção ocorre porque existe variação entre os indivíduos em cada população, gerada pelos processos que criam e ampliam a variabilidade. Assim, aqueles indivíduos que têm características favoráveis para sua sobrevivência e que têm capacidade de deixar mais descendentes são os mais adaptados. Em consequência, na progênie ocorre um aumento da frequência dos alelos dos indivíduos mais adaptados e uma redução das frequências dos alelos daqueles menos adaptados.

#### **BOX 15.1. DIFERENTES TIPOS DE SELEÇÃO NATURAL**

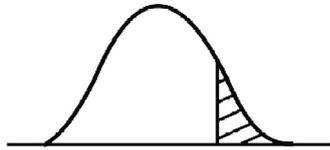
##### **SELEÇÃO ESTABILIZADORA**

Uma população de indivíduos que permanece por um longo período de tempo em uma determinada condição ambiental desenvolve fenótipos que são adaptados a essa condição, isto é, muitos dos fenótipos tendem a aglutinar-se ao redor de um valor em que a adaptação é maior. Os indivíduos extremos que desviam desse ótimo são menos adaptados e, provavelmente serão eliminados, portanto são selecionados os indivíduos que apresentam desempenho em torno da média.



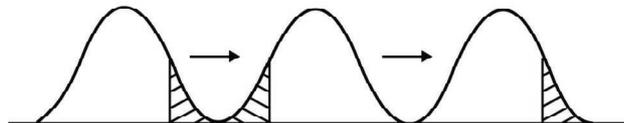
### SELEÇÃO DIRECIONAL

É o tipo de seleção que favorece os fenótipos localizados em um dos extremos da curva. Como consequência deve ocorrer mudança na média da população no sentido da média do grupo selecionado. A seleção praticada pelos melhoristas de plantas e animais é desse tipo. Em termos de evolução, a seleção direcional é importante quando o ambiente é alterado em apenas uma direção. Assim, os fenótipos extremos devem ser os mais adaptados para as novas condições.



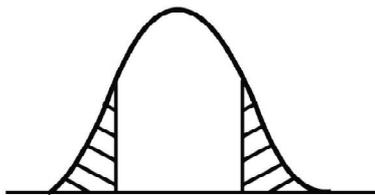
### SELEÇÃO CÍCLICA

Quando o ambiente varia muito em diferentes direções entre gerações ou entre estações, o fenótipo e, conseqüentemente, o genótipo podem ser alterados de acordo com o ambiente. Esse tipo de seleção contribui para manter as diferenças genéticas na população, desde que diferentes fenótipos possam ser vantajosos em diferentes condições.



### SELEÇÃO DISRUPTIVA

Quando a população é submetida a diferentes ambientes dentro de uma mesma geração ou estação, de modo que os genótipos mais divergentes são os mais adaptados, ocorre a seleção disruptiva, ou seja, são selecionados os indivíduos situados nos dois extremos. É o contrário da seleção estabilizadora. A variação fenotípica na população é descontínua e favorece um intenso polimorfismo e, conseqüentemente, a divergência.



Nas últimas décadas, surgiram vários exemplos que comprovam a teoria da seleção natural proposta por Darwin, no final do século XIX. Um dos exemplos mais marcantes é o da resistência da mosca doméstica e de outros insetos ao DDT. Quando surgiu esse inseticida, na década de 1940, sua eficiência no controle desses insetos era muito alta. Porém, poucos anos após o início do seu uso, a sua eficácia no controle dos mesmos insetos foi sensivelmente reduzida. A princípio poder-se-ia pensar que os atuais insetos resistentes apareceram por ação do DDT, isto é, esse inseticida teria um efeito mutagênico. No entanto, o que ocorreu não foi bem isso, o DDT funcionou como um agente de seleção, permitindo que apenas os indivíduos portadores de alelos de resistência sobrevivessem e deixassem descendentes. Dessa forma, após várias gerações, a frequência dos alelos de resistência atingiu um certo nível que o inseticida perdeu sua eficiência.

Na agropecuária existem vários exemplos de seleção natural nas populações de pragas e patógenos quando controlados por defensivos químicos, de modo idêntico ao relatado anteriormente. Como exemplo, pode-se citar o caso que ocorreu com duas pragas do algodoeiro, a lagarta da maçã resistente aos inseticidas à base de DDT e da broca da raiz resistente ao Aldrin. Para evitar esse efeito da seleção natural, é recomendável sempre a alternância de métodos de controle e evidentemente a utilização de defensivos com princípios ativos diferentes. Essas práticas evitam a seleção dos genótipos resistentes ao produto e, principalmente, expor a cultura ao risco de ser destruída por uma grande incidência da praga ou patógeno.

A seleção natural ocorre também em populações de pragas e patógenos quando se utilizam cultivares geneticamente resistentes aos mesmos. Como exemplo, pode-se citar o caso da antracnose do feijoeiro. As cultivares de feijão resistentes, como a Carioca 80, possuem o alelo dominante *Co-2*. Cerca de quatro anos após a utilização dessa cultivar pelos agricultores, ela se mostrou suscetível. Isso aconteceu porque surgiu uma nova raça do fungo que venceu a resistência conferida por aquele alelo. É provável que o uso continuado dessa fonte de resistência tenha funcionado como agente seletivo e induzido a seleção direcional na população do patógeno, isto é, o aumento de frequências das raças que vencem a resistência conferida pelo alelo *Co-2*.

Diante do exposto, nota-se que a seleção natural atua nas populações para aumentar o nível de adaptação das mesmas, ajustando às modificações ambientais. Em geral, a alteração da constituição genética da população pela seleção natural é mais rápida quando o ambiente é alterado bruscamente pelo homem, como no caso dos exemplos comentados relativos ao uso incorreto de defensivos ou o emprego de monocultura geneticamente uniforme contra pragas e patógenos.

A seleção natural é considerada o processo que dirige a evolução, porque, ao contrário dos outros processos, sua atuação não é ao acaso, mas orientada no sentido de tornar as populações mais adaptadas.

Outro tipo de seleção muito utilizado na agropecuária é a artificial. Esta se assemelha à seleção natural no sentido de que ambas alteram as frequências alélicas da população, mantendo alguns genótipos e eliminando outros. Esses dois tipos de seleção, no entanto, podem ser completamente opostos quanto aos seus objetivos, pois, como já foi comentado, a seleção natural visa a maximizar a adaptação da população, enquanto a seleção artificial procura manter, principalmente, aqueles fenótipos agronomicamente desejáveis.

O milho moderno é um exemplo de uma espécie que é o produto da seleção artificial, pois suas espigas grandes com numerosas sementes bem aderidas ao sabugo e protegidas pela palha são fenótipos agronomicos desejáveis. Essa espécie moderna provavelmente se extinguiria, caso ela deixasse de ser cultivada, pois as sementes não se dispersariam e a consequência seria a germinação de todas elas aderidas à espiga, produzindo um elevado número de plantas em grande competição entre si e, possivelmente, não gerando nenhum descendente. Já, o milho primitivo, de acordo com evidências fósseis, apresentava espigas pequenas, com cerca de 12 mm de comprimento. O número de sementes nessas espigas era reduzido e se soltava facilmente, facilitando assim sua disseminação e o desenvolvimento das plantas em locais espaçados, evitando, desse modo, a competição entre elas. Essas características no milho primitivo foram reunidas pela seleção natural com a finalidade de conferir àquelas plantas capacidade adaptativa para sobreviver naturalmente. Portanto, no milho, a direção de atuação da seleção natural foi completamente o inverso da artificial, especialmente nos caracteres da espiga.

#### 15.4.2 Oscilação Genética

Foi visto (Capítulo 13) que a oscilação genética ocorre em decorrência de problemas de amostragem que surgem quando a população é de tamanho limitado. Ela provoca alterações aleatórias nas frequências alélicas, chegando mesmo a fixar determinados alelos. O efeito da oscilação é tanto maior quanto menor for o tamanho das populações e maior o número de gerações transcorridas.

A importância da oscilação genética para a evolução não é muito clara. Ela tem sido considerada apenas como um mecanismo auxiliar da seleção natural. Outros efeitos atribuídos à oscilação genética são as alterações nas frequências alélicas de uma população que temporariamente se reduziu de tamanho - **efeito de afunilamento** - e também naquelas que se desenvolveram em certos locais, a partir de poucos indivíduos migrantes de uma população maior - **princípio do fundador**. Nesses dois casos, ocorre uma redução no tamanho da população e a amostra de gametas da população maior, para formar aquela de tamanho reduzido, contém desvios, não mantendo as mesmas frequências alélicas da original.

Na preservação de espécies nativas ou mesmo de plantas cultivadas, um dos aspectos de maior importância é o número de indivíduos necessários para representar a variabilidade

existente na população. Isso, porque se o número de indivíduos for muito pequeno, o efeito da oscilação genética será muito pronunciado, o que pode levar à alteração drástica nas características da população que se deseja manter, ou até mesmo contribuir para que ocorra a extinção daquela população.

### 15.4.3 Isolamento Reprodutivo

O isolamento reprodutivo é definido como sendo o processo que dificulta ou impede a troca de alelos entre duas populações e é essencial para a formação de espécies novas, bem como a manutenção da identidade de cada uma. Tomando como base a classificação proposta por Stebbins (1970), esses mecanismos são:

a- Mecanismos pré-zigóticos - Impedem a fertilização e a formação do zigoto. Existem vários mecanismos que podem ser incluídos nessa categoria, entre eles:

a<sub>1</sub> - Habitat - As populações vivem na mesma região, mas ocupam diferentes condições de ambientes.

Como exemplo, desse mecanismo, são citadas duas espécies de carvalho dos Estados Unidos. Uma, o carvalho escarlate (*Quercus coccinea*), se desenvolve em brejos mal drenados, com solos ácidos e a outra, o carvalho negro (*Quercus velutina*), que é encontrado em solos secos, nos locais mais altos. Nas regiões onde existem habitats intermediários, encontram-se com frequência híbridos entre as duas espécies, no entanto, onde esses habitats não existem, também não se observam os híbridos e as duas espécies permanecem completamente isoladas.

a<sub>2</sub> - Sazonal ou temporal - As populações ocorrem na mesma região mas apresentam maturidade sexual em épocas diferentes.

Um estudo da distribuição de espécies de orquídeas, na região Sudeste do Brasil, evidenciou um isolamento do tipo sazonal. Foi verificado que a espécie *Miltonea moreliana* se distribui nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro e sul do Espírito Santo e somente no norte desse último ocorre uma população de orquídea da mesma espécie, só que diferente em alguns caracteres. Entre eles, o período de florescimento das duas populações difere cerca de dois meses, o que impede o cruzamento entre elas. Duas outras espécies de orquídeas permanecem isoladas reprodutivamente, mesmo quando se encontram na copa de uma mesma árvore. Nesse caso, a *Cattleya labiata* floresce nos meses de janeiro e fevereiro, enquanto a *C. chocoensis* de maio a junho.

a<sub>3</sub> - Etológico (somente em animais) - As populações são isoladas por comportamentos diferentes e incompatíveis antes do acasalamento.

Um exemplo interessante é observado entre várias espécies de rãs. Nestas, o acasalamento só ocorre entre os indivíduos machos e fêmeas de uma dada espécie, em razão de estímulos auditivos específicos. Um dos critérios mais utilizados na identificação das diferentes espécies é o do som que cada uma emite.

$a_4$  - Mecânico - A fecundação cruzada é impedida ou restringida por diferenças estruturais dos órgãos reprodutivos.

Entre espécies da falsa erva-de-rato (*Asclepias* spp), plantas tóxicas que ocorrem em pastagens, existe um isolamento reprodutivo do tipo mecânico. Isso acontece, porque as flores de espécies distintas são estruturalmente diferentes, a tal ponto que mesmo com visitas sucessivas de um inseto em flores de duas espécies diferentes não se realiza o cruzamento.

$a_5$  - Incompatibilidade gamética - Os gametas não sobrevivem em órgãos reprodutivos estranhos.

Existem muitas evidências de isolamento gamético em insetos e outros animais e também em plantas. Dos exemplos em plantas, o cruzamento entre certas espécies de gênero *Nicotiana* é incompatível porque o pólen de uma espécie é abortado no estigma da outra, sendo que essa reação apresenta um controle genético monogênico.

b- Mecanismos pós-zigóticos - A fecundação ocorre e os zigotos híbridos são formados, mas estes são inviáveis ou dão origem a híbridos fracos ou estéreis.

$b_1$  - Inviabilidade ou debilidade do híbrido.

O estudo mais detalhado sobre esse mecanismo de isolamento foi feito a partir da inseminação artificial de rãs de uma espécie com esperma de outra, na tentativa de se obterem híbridos interespecíficos. A hibridação de *Rana pipiens* x *Rana sylvatica* produziu embriões que se desenvolveram apenas até o estágio de gástrula, mostrando portanto, ser inviável a formação do híbrido. Um exemplo em planta foi observado em linho, onde as sementes híbridas, provavelmente do cruzamento de *Linum perene* (♀) x *L. austriacum* (♂), não germinaram porque o embrião não conseguiu romper o invólucro da semente nas condições naturais.

Esse tipo de incompatibilidade ocorre também em muitas outras espécies vegetais. Contudo, a incompatibilidade pode em alguns casos ser superada por meio de processo artificial via cultura de embrião (Capítulo 17). Esse processo tem sido utilizado em muitos casos, especialmente nas cucurbitáceas.

$b_2$  - Esterilidade do híbrido - Os híbridos são estéreis porque os órgãos reprodutivos não se desenvolvem completamente ou o processo meiótico é anormal.

Na pecuária, em várias ocasiões já foi experimentada a obtenção de certos híbridos interespecíficos visando a associar em um mesmo animal características desejáveis que estão

separadas em indivíduos de espécies diferentes. Um dos exemplos é o cruzamento de bovinos com búfalos, visando a incorporar nos bovinos maior rusticidade. Nos casos em que os descendentes foram obtidos, esses eram estéreis, principalmente em razão do desenvolvimento incompleto dos testículos dos machos.

A esterilidade pode ocorrer também pela falta de homologia entre os genomas das espécies. O exemplo mais marcante que se tem é o cruzamento de jumento (*Equus asinus*) com a égua (*Equus caballus*). Nesse caso, o híbrido obtido, burro ou mula, é muito vigoroso, apesar de estéril. Há, contudo, relatos especialmente no caso de mulas, em que estas foram férteis.

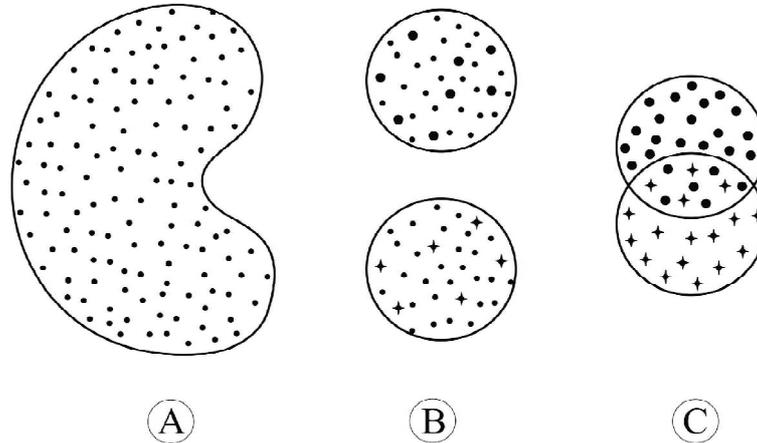
Nas plantas, as segregações cromossômicas anormais são também causas frequentes da esterilidade dos híbridos interespecíficos. No entanto, as plantas suportam a poliploidia porque a esterilidade pode quase sempre ser suplantada por meio da duplicação do número de cromossomos. Vários exemplos obtidos desse modo, de alopoliplóides férteis, são apresentados no Capítulo 14. Algumas espécies alopoliplóides, e que hoje assumem grande importância econômica após terem duplicado seus cromossomos, são o trigo comum (*Triticum turgidum* x *Aegilops tauschii*), triticale (*Triticum durum* x *Secale cereale*) e nabo (*Brassica oleracea* x *Brassica campestris*), entre outras.

## 15.5 ESPECIAÇÃO

A especiação é a formação de novas espécies e engloba todos os processos de evolução já comentados, geralmente associados a um isolamento geográfico e, nesse caso, é denominada de especiação **alopátrica**. No entanto, quando a especiação ocorre dentro de uma mesma região geográfica é denominada **simpátrica**.

De maneira geral, a especiação se processa do seguinte modo (Figura 15.1): os mecanismos geradores de variabilidade genética ocorrem para fornecer os recursos destinados a tornar essa população mais adaptada e sobreviver às alterações ambientais. Acontece que nem toda a variabilidade é útil para a população, nas suas condições ambientais, mas apenas determinados genes ou conjuntos de genes é que permitem a sua adaptação. A parcela restante da variabilidade pode permitir que alguns indivíduos ocupem novas condições ambientais, formando assim subpopulações. Estas, para adaptarem-se aos seus ambientes, vão acumulando novos complexos gênicos adaptativos e, em consequência, ocorre uma divergência genética entre as subpopulações. Em virtude de cada subpopulação ocupar um habitat particular, os acasalamentos entre elas não ocorrem tão livremente quanto dentro de cada uma, o que contribui para aumentar a divergência genética, e mesmo iniciar o surgimento de mecanismo de isolamento reprodutivo. Porém, se por um motivo qualquer, as subpopulações ficarem isoladas geograficamente, o fluxo gênico entre elas fica mais restrito e desenvolvem-se os mecanismos de isolamento reprodutivo, a tal ponto que, quando elas

forem reunidas novamente, permaneçam isoladas, caracterizando o estágio de espécies biológicas diferentes.



**FIGURA 15.1.** Evolução de uma população resultando na formação de novas espécies: A) população geneticamente heterogênea onde estão atuando os mecanismos que criam e ampliam a variabilidade genética e permite aos indivíduos explorarem novos ambientes; B) subpopulações oriundas da migração da população original para novos ambientes em decorrência da atuação dos mecanismos que as conduzem para canais adaptativos; C) espécies biológicas distintas convivendo no mesmo habitat, porém isoladas reprodutivamente.

Uma comparação interessante entre os processos de evolução que atuam numa linha evolutiva de organismos que está variando através dos tempos, e um automóvel percorrendo uma estrada foi feita por Stebbins (1970). Segundo o autor, “a mutação corresponde ao combustível no tanque, pois é a única fonte de nova variação genética, que é essencial para a progressão contínua, mas não é a fonte imediata de força motriz. Esta, por sua vez, corresponde à recombinação genética, atuando pela mistura de genes e de cromossomos, que ocorre durante o ciclo sexual. Uma vez que a recombinação fornece a fonte imediata de variabilidade sobre a qual a seleção exerce sua ação primária, ela pode ser comparada ao motor do automóvel. A seleção natural, que dirige a variabilidade genética para a adaptação ao ambiente, pode ser comparada ao motorista do veículo. Existem várias evidências indicando que mudanças estruturais nos cromossomos, que alteram a sequência dos genes ao longo deles, podem ter profundos efeitos sobre a inter-relação entre recombinação genética e seleção natural, e assim podem comparar-se ao câmbio e ao acelerador do automóvel. Finalmente, o isolamento reprodutivo, que inclui todas as barreiras à troca de alelos entre populações, tem um efeito canalizador semelhante à estrada que, com seus limites e sinalizações, exerce sobre o condutor do automóvel, permitindo assim a movimentação de vários veículos na mesma direção e ao mesmo tempo”.

## 15.6 CONCEITO DE ALGUNS TERMOS

Existe uma série de termos que é normalmente utilizada pelos evolucionistas e também na agropecuária que muitas vezes gera confusão. O primeiro deles é o próprio conceito de **espécie**, que pode ser definido de várias maneiras. Para o evolucionista e o geneticista, espécie é um grupo de indivíduos que possui a capacidade de trocar alelos naturalmente entre si, porém não com indivíduos de outra espécie. Esse conceito considera o desenvolvimento de mecanismos de isolamento reprodutivo, que impede o fluxo gênico.

Há também o que se denomina conceito tipológico de espécie, que é muito usado pelo taxonomista. Este considera na definição de espécie principalmente caracteres morfológicos. Esses dois conceitos nem sempre são coincidentes porque as diferenças morfológicas não são completamente associadas com os mecanismos de isolamento reprodutivo. Em decorrência disso, muitas espécies consideradas diferentes pelos taxonomistas se cruzam e produzem descendentes férteis e, portanto, devem ser enquadradas numa única espécie biológica. Os especialistas em essências florestais, por exemplo, classificam como espécies diferentes vários tipos de eucaliptos (*E. saligna*, *E. citriodora*, *E. grandis*) que se cruzam normalmente, não devendo assim serem consideradas espécies biológicas distintas.

O processo de especiação normalmente não envolve mudanças bruscas entre as subpopulações, ao contrário, pequenas diferenças vão se acumulando gradualmente. Durante o decorrer do processo, quando as subpopulações atingem certo grau de diferenciação, sem contudo, terem sido desenvolvidos mecanismos de isolamento reprodutivo, elas são denominadas de **raças**. Está implícito nesse conceito que na diferenciação de raças estão envolvidos normalmente um grande número de diferenças genéticas. As raças de bovinos utilizadas pelos zootecnistas se enquadram dentro desse conceito. Já, o conceito de raça fisiológica adotado pelos fitopatologistas para fungos difere completamente do apresentado aqui. Nesse caso, as diferenças entre as raças são decorrentes, unicamente, da capacidade de ser fitopatogênico, ou não, em um dado hospedeiro, geralmente essa diferença na capacidade é controlada por um, ou poucos genes.

O conceito de **variedade** é também muito polêmico. Os botânicos, por exemplo, utilizam-no de modo semelhante ao comentado anteriormente para raça. Já, na agricultura, esse termo tem uma utilização muito diversificada. Assim, por exemplo, quem trabalha com a cultura do milho denomina de variedade uma população melhorada em equilíbrio. Já, o termo híbrido é empregado para o material proveniente do cruzamento de duas ou mais linhagens e como cultivar os dois grupos - híbridos e variedades. Para outras culturas, os termos variedade e cultivar são na maioria dos casos usados como sinônimos. Na fruticultura, o termo variedade se confunde com clone - descendentes de um único indivíduo por propagação vegetativa. Em plantas autógamas, por sua vez, como é o caso do feijão, arroz e trigo, o termo cultivar é usado considerando a existência de uma única linhagem - genótipo homocigótico - ou uma mistura de linhagens.

# 16 EFEITO MATERNO E HERANÇA EXTRACROMOSSÔMICA

## 16.1 INTRODUÇÃO

Como já foi amplamente discutido nos capítulos anteriores, os gametas masculinos e femininos são equivalentes em relação à constituição de genes. Isso pode ser constatado, por exemplo, quando um descendente bovino Shorthorn ruão - com pelos vermelhos e brancos - é produzido a partir do cruzamento de um touro vermelho com uma vaca branca ou de um touro branco com uma vaca vermelha. Nesse caso, o alelo responsável pela cor vermelha do pelo do animal é passado para o filho pelo gameta masculino ou feminino e o mesmo acontece em relação ao alelo responsável por pelo branco. Isso acontece porque a maioria dos caracteres dos organismos superiores é controlado por genes nucleares que segregam de acordo com o comportamento dos cromossomos na meiose.

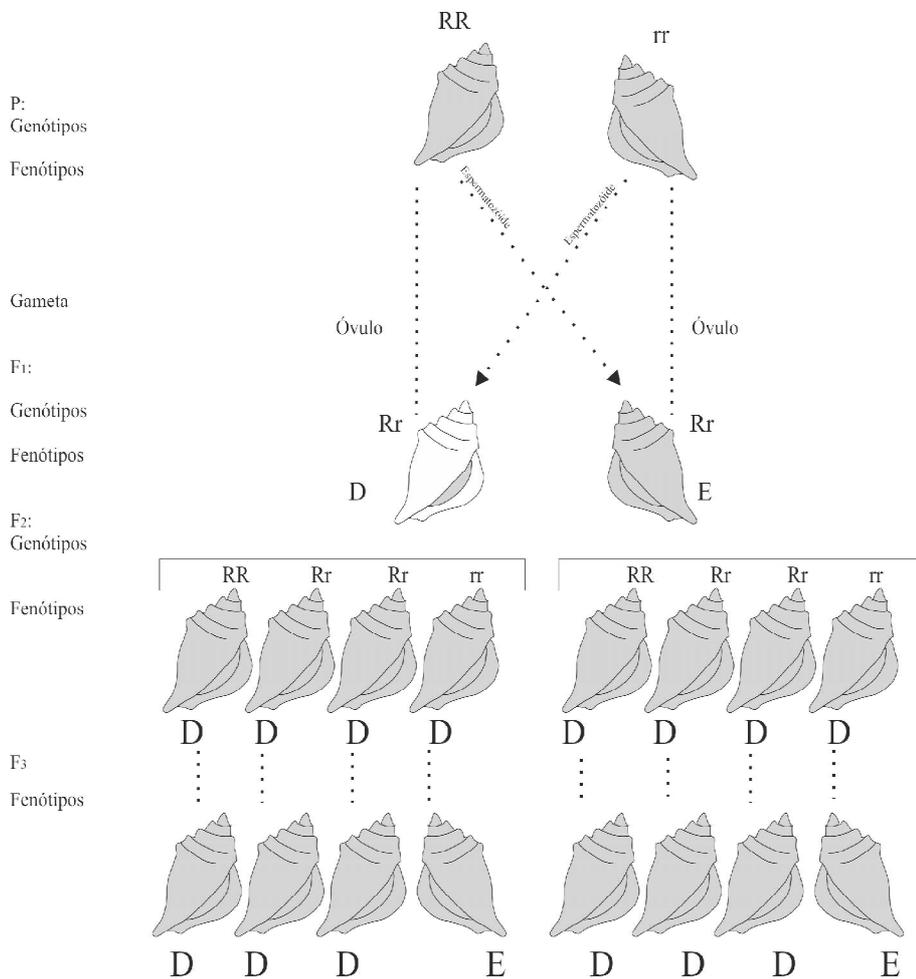
Entretanto, um pequeno grupo de caracteres é herdado graças aos genes ou produtos gênicos presentes no citoplasma do gameta. Como o gameta feminino contribui com quase a totalidade do citoplasma para o descendente, o modo de herança desses caracteres, à primeira vista, processa-se de modo diferente daqueles controlados por genes nucleares. Assim, para se constatar esse tipo de herança, deve-se verificar se existe diferença entre os resultados de um cruzamento e de seu recíproco. Entende-se por **cruzamento recíproco** aquele em que o genitor é usado ora como fêmea, ora como macho. Desse modo, se a herança de um dado caráter é controlada por genes nucleares, os resultados de um cruzamento e de seu recíproco serão idênticos. Porém, se for um caso em que o caráter é decorrente de efeitos citoplasmáticos, os resultados dos cruzamentos recíprocos serão diferentes, isto é, os descendentes de cada cruzamento terão sempre o mesmo fenótipo do genitor feminino, que contribui com o citoplasma. Esse tipo de herança pode ser explicado por dois mecanismos: o efeito materno e a herança extracromossômica.

## 16.2 EFEITO MATERNO

O efeito materno é um caso especial de herança controlado por genes nucleares da mãe, porém que são responsáveis por certas condições do citoplasma do óvulo - provavelmente, produtos gênicos. Essas condições é que determinam a expressão fenotípica

de alguns caracteres do filho, independente dos genes doados pelo pai. Contudo, é importante salientar que o efeito materno na expressão desses caracteres nos descendentes se dá apenas por uma ou, no máximo, duas gerações.

Um dos exemplos mais comentados na literatura sobre efeito materno refere-se à direção de enrolamento da concha do caramujo *Limnaea peregra*. O enrolamento da concha é um caráter monogênico, sendo que o alelo dominante, **R**, condiciona o enrolamento para a direita, e o recessivo, **r**, para a esquerda. No entanto, quando se cruzam indivíduos puros com as duas direções de enrolamento, e se obtêm também os recíprocos, são obtidos os resultados apresentados na Figura 16.1.



**FIGURA 16.1.** Efeito materno. Cruzamentos recíprocos ilustrando a herança da direção de enrolamento da concha do caramujo *Limnaea peregra* para a direita (D) ou esquerda (E). Observe que o fenótipo do filho é sempre a expressão do genótipo da mãe. (Modificado de Sinnott et al., 1975).

Nota-se (Figura 16.1) que o fenótipo dos filhos depende do genótipo da mãe, o que é constatado, principalmente, pelas diferentes direções de enrolamento da concha da geração  $F_1$  e do cruzamento recíproco. Observa-se ainda que o fenótipo da  $F_2$ , nos dois cruzamentos, expressa apenas o genótipo  $F_1$ , que condiciona enrolamento para a direita e cuja segregação monogênica típica 3D: 1E da geração  $F_2$  é observada na geração  $F_3$ . A explicação para esses resultados é que o citoplasma do óvulo deve ser afetado por um produto do gene nuclear materno que, durante a primeira clivagem do zigoto, determina o sentido das fibras do fuso para a direita ou para a esquerda em relação ao eixo da célula e ocasiona, respectivamente, o enrolamento da concha para a direita ou esquerda. Evidentemente, nesse caráter, o efeito do gene materno se expressa apenas na primeira geração descendente.

A herança de caracteres de grande importância agrônômica, como o teor de proteína do grão de soja e feijão, o teor de óleo do grão de soja e o tamanho da semente da ervilha, é um dos exemplos conhecidos onde o efeito materno é considerado a principal explicação de resultados de cruzamentos recíprocos. Como exemplo são apresentados na Figura 16.2 os valores obtidos para o teor de proteína do grão de feijão.

### Cruzamento

P:	(♀) PI 169760	(♂) PI 229815
Fenótipos:	20,42% de proteína $s^2 = 5,76$	27,12% de proteína $s^2 = 1,77$

$F_1$	
Fenótipos:	19,58% de proteína $s^2 = 1,64$

$F_2$	
Fenótipos:	21,22% de proteína $s^2 = 4,71$

### Recíproco

P:	(♀) PI 229815	(♂) PI 169760
Fenótipos:	27,12% de proteína $s^2 = 1,77$	20,42% de proteína $s^2 = 5,76$

$F_1$	
Fenótipos:	27,26% de proteína $s^2 = 2,99$

$F_2$	
Fenótipos:	21,70% de proteína $s^2 = 5,76$

**FIGURA 16.2.** Resultado de cruzamentos recíprocos considerando o caráter teor de proteína do grão de feijão, ilustrando também um caso de efeito materno (Leleji et al., 1972).

Como sabemos, o teor de proteína do grão de feijão é um caráter quantitativo, onde estão envolvidos, provavelmente, vários genes sendo afetados consideravelmente pelo ambiente, o que difere do exemplo comentado sobre o enrolamento da concha de *L. peregra*, que é controlado por um único gene com dois alelos. No entanto, nota-se que a herança do teor de proteína do feijão é, principalmente, materna, em primeiro lugar pelos diferentes fenótipos apresentados pelas duas  $F_1$ , provenientes dos cruzamentos recíprocos. Os fenótipos destas  $F_1$  são, praticamente, iguais ao fenótipo da mãe, o que equivale a dizer que o genótipo materno se expressa no filho. Seguindo esse raciocínio, observa-se que os fenótipos das duas populações  $F_2$  são semelhantes. Como essas duas populações são provenientes de cruzamentos em que a  $F_1$  participou como mãe, então a semelhança de tais fenótipos refere-se à expressão do genótipo  $F_1$ . Essa conclusão é confirmada quando se verifica que as variâncias dos pais,  $F_1$  e  $F_2$ , são semelhantes e referem-se, portanto, à variância ambiental, isto é, os dados apresentados correspondem às expressões dos genótipos dos genitores e das  $F_1$ .

O conhecimento desse tipo de herança é imprescindível para a eficiência de certos programas de seleção. Por exemplo, é possível analisar o teor de proteína ou óleo de uma única semente de soja por meio de técnicas não destrutivas e, posteriormente, efetuar o plantio dessa semente para a obtenção dos descendentes. Como a herança dessas duas características é, principalmente, materna, a seleção de sementes  $F_2$ , colhidas de uma única planta, é inteiramente ineficaz, pelo fato de os fenótipos dessas sementes serem semelhantes e representarem a expressão do genótipo da planta  $F_1$ . O genótipo de cada semente  $F_2$  irá se expressar, portanto, apenas nas sementes produzidas por sua progênie. Assim, o êxito da seleção só ocorrerá quando se proceder à seleção entre as progênies de cada semente  $F_2$ , que corresponde à geração  $F_3$ .

Como se pode constatar a partir dos exemplos apresentados, os caracteres, cuja herança é denominada de efeito materno, são praticamente iguais aos caracteres mendelianos. Aqui também estão envolvidos genes situados nos cromossomos. A diferença é que a expressão do genótipo de qualquer indivíduo se manifesta nos seus descendentes quando o referido indivíduo for usado como genitor feminino. Ou seja, o genótipo da  $F_1$  se expressa em  $F_2$ , o genótipo da  $F_2$  na geração  $F_3$  e, assim, sucessivamente. Na realidade, existem, então, duas diferenças em relação à herança mendeliana: a primeira é que só o genótipo materno se expressa na primeira geração descendente, e isso é a causa da segunda diferença que resulta na expressão fenotípica sempre uma geração atrasada.

### 16.3 HERANÇA EXTRACROMOSSÔMICA

Os caracteres com esse tipo de herança são decorrentes de genes situados em organelas do citoplasma, sendo que as principais portadoras desses genes são as mitocôndrias que

ocorrem nos eucariontes em geral e os plastos, encontrados nas plantas. Como se sabe, essas organelas possuem DNA com funções de replicação e transcrição independentes do DNA nuclear. Em relação aos procariontes, as características com herança citoplasmática são aquelas determinadas por genes localizados nos plasmídeos (Capítulo 17, 16.1).

Como já foi comentado, o descendente de um cruzamento recebe essencialmente o citoplasma do óvulo; assim, os caracteres decorrentes dos genes citoplasmáticos se expressam no filho, apresentando sempre o mesmo fenótipo da mãe.

#### **BOX 16.1 ORIGEM DAS MITOCÔNDRIAS E CLOROPLASTOS**

Existem algumas evidências de que as mitocôndrias e cloroplastos têm origem endossimbionte, ou seja, em um passado distante alguma bactéria se associou as células primitivas e ocorreu um benefício mútuo – endossimbiose. A partir de então, o organismo endossimbionte passou a ser constituinte das células. No caso das células animais, as mitocôndrias e as células dos organismos que realizam fotossíntese, além das mitocôndrias, os cloroplastos são organelas celulares. As principais evidências são:

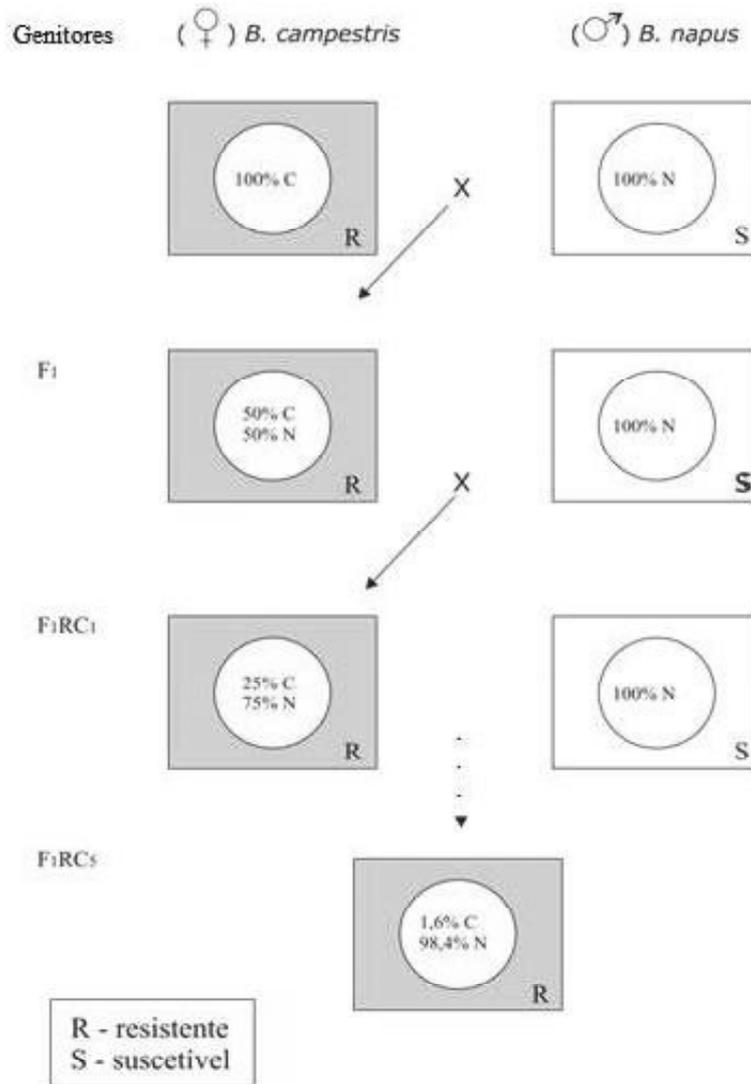
- a) o DNA das mitocôndrias e dos cloroplastos diferem em quantidade do existente no núcleo celular e são mais semelhantes ao de bactérias;
- b) o código genético utilizado pelas mitocôndrias tem algumas especificidades que diferem da célula hospedeira;
- c) a membrana das mitocôndrias têm maior semelhança com a dos procariontes do que com a da célula hospedeira;
- d) o sistema de multiplicação, fissão binária, dos cloroplastos e mitocôndrias é semelhante ao das bactérias
- e) a estrutura dos, cloroplastos como, por exemplo, a presença de tilacóides e tipos particulares de pigmentos, é muito semelhante ao das cianobactérias. Análises filogenéticas de bactérias, cloroplastos e genomas eucarióticos também sugerem que os cloroplastos estão relacionados com as cianobactérias;
- f) tanto as mitocôndrias como os cloroplastos possuem genomas muito pequenos, em comparação com outros organismos, o que pode significar um aumento da dependência dessas organelas depois da simbiose se tornar obrigatória, ou melhor, passar a ser um organismo novo.

### 16.3.1 Genes do Plasto

Alguns genes localizados no plasto, com funções já conhecidas, são os responsáveis por RNA ribossômico, que constitui os ribossomos do próprio plasto, e também os determinantes de algumas enzimas que participam da fotossíntese. Outro caráter que poderá vir a ser amplamente utilizado no melhoramento de plantas é a resistência a herbicidas. Muitos herbicidas importantes atuam inibindo a fotossíntese. Uma dessas classes de herbicidas é a das triazinas, que têm afinidade pelas membranas do tilacoide, onde bloqueia o transporte de elétrons, desprovendo o cloroplasto da energia necessária para a fotossíntese.

Em áreas agrícolas, onde herbicidas desse grupo vêm sendo intensamente utilizados, têm surgido algumas ervas daninhas resistentes. Os estudos bioquímicos demonstraram que tal resistência se deve a uma única proteína constituinte do tilacoide do cloroplasto. Mediante o sequenciamento das proteínas de uma planta suscetível e de uma resistente, ambas da espécie *Amaranthus hybridus*, pode ser constatado que a resistência é devida à presença do aminoácido glicina, que substituiu a serina em um único local da molécula. Cerca de 30 espécies de ervas daninhas já mostraram resistência às triazinas e foi constatado que essa resistência se deve a uma proteína semelhante em todas elas. Como esse herbicida vem sendo aplicado continuamente, ele contribuiu, como agente de seleção, para o surgimento de plantas daninhas resistentes à sua ação. O interessante, no entanto, é obter plantas cultivadas que sejam resistentes ao herbicida, para que ele possa ser mais amplamente usado. A indagação que surge é: como pode ser realizada a transferência do gene de resistência da erva daninha para a espécie cultivada? Se fosse um gene situado nos cromossomos, a transferência poderia ser realizada utilizando os procedimentos já discutidos (Capítulo 5) e seria feita com relativa facilidade, desde que as duas espécies apresentassem cruzamentos compatíveis. Entretanto, o gene de resistência está situado nos plastos o que torna a situação um pouco diferente daquela discutida anteriormente, porque aqui há necessidade de se transferir o citoplasma. Vejamos como isto pode ser feito utilizando o exemplo de transferência, já realizado, envolvendo duas espécies de *Brassicas*. A erva daninha resistente é da espécie *B. campestris* e a planta cultivada a *B. napus*, conhecida vulgarmente como colza, utilizada como forrageira e de cujas sementes se extrai o óleo. O processo envolveu vários retrocruzamentos em que se empregou a *B. campestris* como genitor feminino, no primeiro deles, para fornecer o citoplasma à geração  $F_1$ . Posteriormente, foram realizados vários retrocruzamentos, sempre utilizando os descendentes de cada retrocruzamento como genitor feminino, para manter o citoplasma com os cloroplastos portadores da resistência ao herbicida. Como genitor masculino, usou-se a *B. napus* que cedeu os cromossomos. Após vários retrocruzamentos, obteve-se uma planta com o citoplasma de *B. campestris*, portanto resistente ao herbicida e com o núcleo de *B. napus*

(Figura 16.3). Observa-se, na Figura 16.3 que, após cinco retrocruzamentos, os descendentes possuem 98,4% dos alelos da espécie cultivada, porém mantendo-se integralmente o citoplasma de *B. campestris*, portadora da resistência ao herbicida. Obtém-se, assim, uma planta semelhante a *B. napus* e resistente ao herbicida.



**FIGURA 16.3.** Esquema de cruzamento das espécies *B. campestris* e *B. napus*, mostrando a transferência do alelo de resistência às triazinas, presentes no cloroplasto da erva daninha. Observe que a *B. campestris*, a geração F<sub>1</sub> e os descendentes de cada retrocruzamento foram empregados como fêmea, porque são eles que possuem o alelo de resistência localizado no citoplasma.

### 16.3.2 Genes da Mitochondria

Existem algumas diferenças entre o genoma – DNA das mitocôndrias (mtDNA) e o existente no núcleo das células (BOX16.2). O DNA mitocondrial é responsável, principalmente, pela produção de enzimas que participam da respiração celular e pela produção de RNA que constitui seus ribossomos.

Exemplos de caracteres cuja expressão fenotípica depende do DNA mitocondrial são conhecidos. Um dos exemplos mais marcantes é a esterilidade masculina citoplasmática, em plantas. Esse é o fenômeno pelo qual plantas hermafroditas ou monóicas, apresentam o aparelho reprodutivo feminino normal, mas não produzem pólen viável. Não podem assim serem autofecundadas e só irão produzir sementes por pólen proveniente de outra planta não relacionada com ela. Esse caráter, denominado macho esterilidade, é de grande importância, pois possibilita a produção de sementes híbridas F<sub>1</sub>, sem a necessidade de emasculação, que encarece o custo de produção.

#### BOX 16.2. DIFERENÇAS ENTRE O DNA NUCLEAR E O MITOCONDRIAL

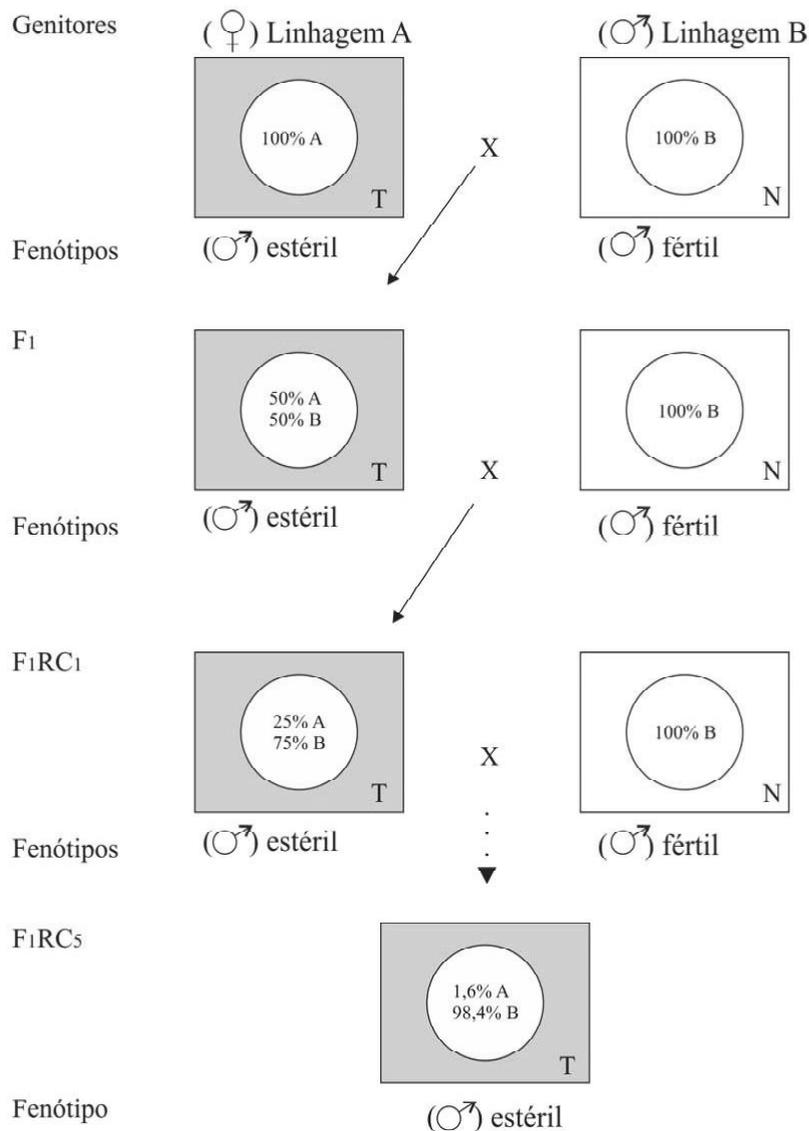
	DNA	
	Nuclear	Mitocondrial
Localização	No núcleo da célula, protegido pela membrana nuclear	Nas mitocôndrias, protegidas pela membrana mitocondrial – influência de radicais livres(??)
Conformação	Dupla hélice linear	Dupla hélice circular
Estrutura	Protegido por histonas	Desprovido de histonas
Número de genes	Aproximadamente 30.000	37
Funcionamento	Autônomo	Necessita de cooperação do DNA nuclear
	Regiões codificantes (éxons) e não codificantes (íntrons)	90% DNA codificante
Característica do genoma	Diplóide (materno/paterno) sofre recombinação	Genoma haplóide (herança materna) – não sofre recombinação
Número de pares de bases	Bilhões de pares de nucleotídeos	16.569 pares de nucleotídeos
Atividade de polimerase	Grande	Fraca
Sistema de reparo	Presente	Ausente
Número de DNA por célula		1.000 a 10.000

A macho esterilidade pode ser de origem de genes nucleares ou citoplasmáticos. Ela já foi registrada em mais de 80 espécies, envolvendo 25 gêneros pertencentes a seis famílias diferentes. Como já mencionado, o conhecimento desse fenômeno possibilitou o emprego comercial na produção de híbridos de algumas espécies agronomicamente importantes, como o milho e a cebola.

A macho esterilidade no milho foi descrita pela primeira vez em 1931, por Rhoades, a partir do cruzamento de uma planta macho estéril originada do Peru, com outra do Chile, cuja descendência foi toda estéril. A sua importância, na produção de sementes híbridas só ocorreu após a década de sessenta. Atualmente, sabe-se que há vários tipos de citoplasmas envolvidos com a macho esterilidade, sendo os mais importantes os tipos T, S e C. O tipo T foi descoberto no Texas, em 1944. Daí a denominação de citoplasma T. Foi demonstrado que no caso do T, a mitocôndria é deficiente em um segmento de DNA de aproximadamente 2350 pares de nucleotídeos. O tipo S, foi o primeiro citoplasma a ser identificado nos Estados Unidos e o citoplasma do tipo C, foi descoberto no Brasil numa variedade denominada Charrua. Nesses dois casos a esterilidade está associada à presença de DNA nuclear junto ao DNA mitocondrial. Esse DNA adicional é de origem plasmidial. Como esse DNA extra afeta a macho esterilidade, ainda não foi esclarecido.

Diante da importância da esterilidade masculina citoplasmática para a produção de híbridos, é imprescindível conhecer o procedimento de sua transferência de uma linhagem para outra ou de um genitor para outro, a fim de concretizar seu emprego no melhoramento de plantas. Como a mitocôndria de plantas macho estéreis é a organela responsável pela esterilidade, basta transferir para o citoplasma macho estéril os cromossomos de uma linhagem ou genitor macho fértil, por meio de retrocruzamentos sucessivos, de modo semelhante à transferência de plasto, já apresentada. Na Figura 16.4, é mostrada a transferência da macho esterilidade citoplasmática - citoplasma T - da linhagem A de milho para a linhagem B com citoplasma N. Como se observa, após cinco retrocruzamentos a planta resultante terá na sua constituição 100% do citoplasma da linhagem A e o núcleo possui 98,4% dos alelos da linhagem B, ou seja, quase 100% do DNA nuclear, da linhagem B. Portanto, é obtida uma linhagem macho estéril B, praticamente idêntica a linhagem macho fértil B.

Genética na Agropecuária

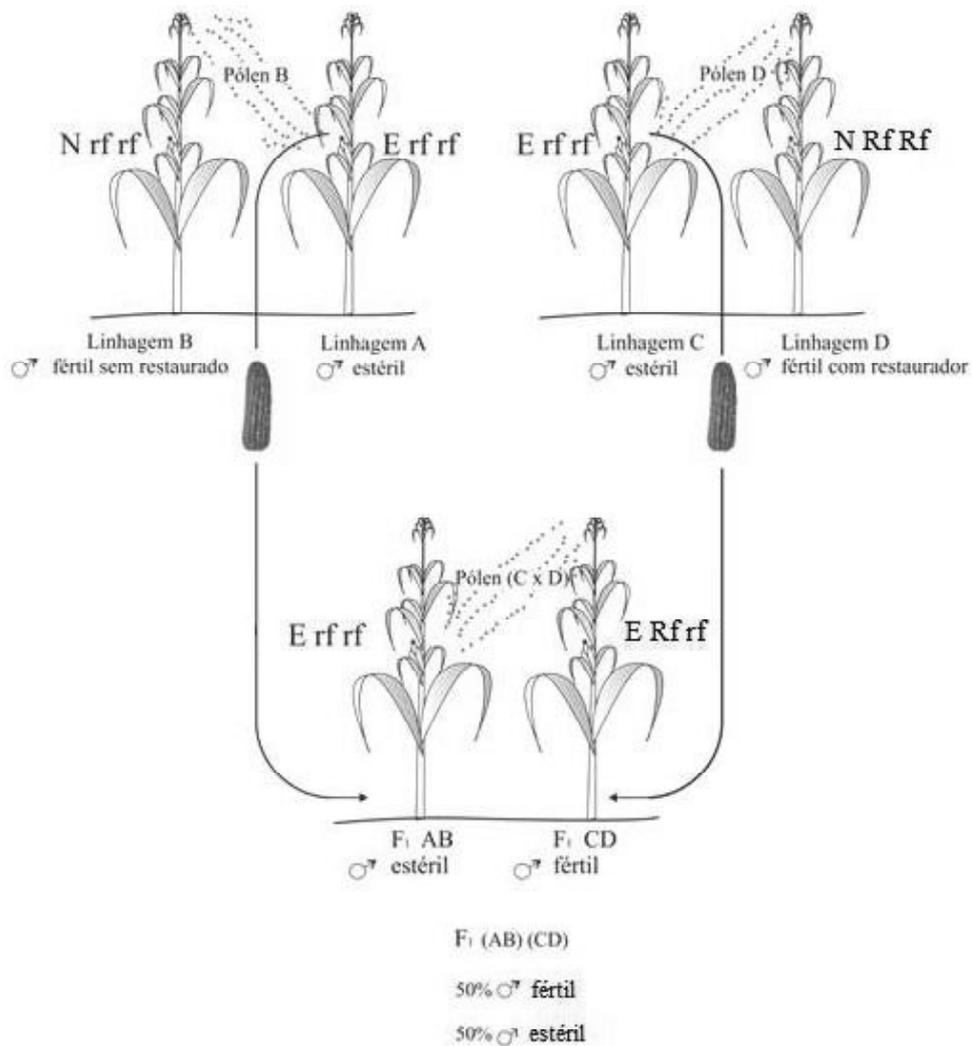


**FIGURA 16.4.** Esquema de cruzamento de duas linhagens de milho mostrando a transferência do citoplasma T causador de macho esterilidade, presente na linhagem A, para a linhagem B. Observe que, após cinco retrocruzamentos, obtém-se uma linhagem macho-estéril com o citoplasma T da linhagem A e os cromossomos da linhagem B.

Na produção de híbrido simples de milho, deve-se utilizar uma das linhagens macho estéril e a outra macho fértil, porém com os alelos dominantes restauradores da fertilidade. Desse modo, a linhagem macho estéril será o genitor feminino, sem a necessidade de ser realizada a operação de despendoamento, que é muito trabalhosa e onerosa. Como já mencionado, a semente híbrida colhida nesse genitor terá o citoplasma macho estéril e, no núcleo, o genótipo **Rrf<sub>1</sub>r<sub>1</sub>**, que permite a produção de pólen. Para a produção de um híbrido

duplo, como já foi comentado no Capítulo 12, empregam-se quatro linhagens. Nesse processo de produção do híbrido, são necessárias linhagens com citoplasma estéril e normal e também o alelo nuclear restaurador de fertilidade - **Rf**.

Observa-se que o híbrido duplo (Figura 16.5) é produzido sem a necessidade de despendoamento em todas as etapas. Nota-se também que apesar de 50% das sementes híbridas obtidas serem macho estéreis não há problema com a cultura, uma vez que a quantidade de pólen produzida pelas plantas macho férteis é suficiente para assegurar a polinização de todas as plantas.



**FIGURA 16.5.** Esquema da obtenção de milho híbrido duplo, utilizando a macho esterilidade citoplasmática e o alelo nuclear restaurador de fertilidade (Rf). O citoplasma para macho esterilidade é representado por E para macho fertilidade por N.

### 16.4 DIFERENÇA ENTRE EFEITO MATERNO E HERANÇA EXTRACROMOSSÔMICA

Foi visto nos tópicos anteriores que, no caso do efeito materno, estão envolvidos genes nucleares; porém, o fenótipo do descendente é dependente do genótipo materno. Na herança extracromossômica não estão envolvidos genes nucleares e sim citoplasmáticos, e aqui também o fenótipo do descendente é idêntico ao da mãe. Considerando apenas os fenótipos dos descendentes dos cruzamentos recíprocos, os dois fenômenos se confundem. Como proceder então para diferenciá-los?

O emprego de vários cruzamentos sucessivos e a manutenção da mesma diferença observada entre a  $F_1$  de um cruzamento e a  $F_1$  do recíproco é indicação de que o caráter é controlado por genes citoplasmáticos. Por outro lado, tratando-se de um caráter com efeito materno, ele irá expressar numa geração qualquer, o fenótipo determinado pelo genótipo nuclear materno da geração anterior. Desse modo, não persiste a diferença entre a  $F_1$  de um cruzamento e a  $F_1$  de seu recíproco. Isso fica evidenciado, comparando-se as Figuras 16.3 e 16.1.

**PROBLEMAS PROPOSTOS**

1. Em caramujo da espécie *Limnaea peregra*, o enrolamento da concha pode ser para a direita, em decorrência do alelo dominante R, ou para a esquerda, condicionado pelo recessivo r. Dois caramujos foram cruzados e produziram um descendente com a concha enrolada para a esquerda. Este descendente foi autofecundado e produziu uma progênie com todos os indivíduos apresentando a concha enrolada para a direita.
  - a) Quais os genótipos do pai, da mãe e de todos os descendentes obtidos?
  - b) Se a progênie com a concha enrolada para a direita for autofecundada, quais as proporções genotípicas e fenotípicas esperadas?
2. Suponha que em arroz ocorra uma determinada anormalidade, qual procedimento deve ser adotado para verificar se a anormalidade é decorrente de genes nucleares, citoplasmáticos, efeito materno ou simplesmente algum efeito ambiental?
3. Em soja, foi realizado o cruzamento entre duas linhagens visando ao estudo da herança do teor de óleo, sendo obtido o seguinte resultado:

Populações	Teor de óleo (%)
Linhagem A	15
Linhagem B	25
F <sub>1</sub> – A x B	15
F <sub>1</sub> – B x A	25
F <sub>2</sub> – A x B	20
F <sub>2</sub> – B x A	20

Qual a conclusão sobre a herança do caráter?

4. Como pode ser diferenciado o caso de herança ligada ao sexo e herança extracromossômica?
5. No tremçoço, uma leguminosa forrageira, o cruzamento de uma linhagem amarga com outra doce produziu todos os descendentes F<sub>1</sub> doce; o seu recíproco apresentou todos os descendentes amargos. Esse resultado só foi observado nas plantas jovens da F<sub>1</sub>, quando atingiram o estágio adulto todas apresentaram folhas amargas.
  - a) Sugira uma provável explicação para esses resultados.
  - b) Quais são as constituições genéticas dos genitores masculinos e femininos envolvidos nos cruzamentos, admitindo que o caráter é monogênico?

c) Quais os resultados esperados na geração  $F_2$  para ambos os cruzamentos, no estágio de plantas jovens e também adultas?

6. No cruzamento de duas cultivares de feijão, contrastantes com relação ao peso das sementes, foram obtidos os seguintes resultados:

Populações	Peso de 100 sementes (g)
$P_1$ - Small White (S)	18
$P_2$ - Diacol Calima (D)	50
$F_1$ - S (♀) x D (♂)	18
$F_1$ - D (♀) x S (♂)	50

a) A herança extracromossômica é uma hipótese plausível para explicar esses resultados?

b) Sugira os cruzamentos necessários para comprovar sua hipótese.

7. A cor amarela numa planta pode ser causada por um alelo recessivo cromossômico e/ou por um fator citoplasmático. Quais os resultados seriam esperados nos seguintes casos?

a) Cruzamentos recíprocos de uma linhagem verde com outra amarela.

b) Retrocruzamentos entre o produto de cada um desses cruzamentos para as linhagens paternas.

c) Autofecundação dos  $F_1$ s dos cruzamentos recíprocos.

d) Cruzamentos dos dois  $F_1$ s.

8. Uma linhagem de cevada com folhas amareladas e aristas longas recebeu pólen de outra linhagem que possuía folhas normais e aristas curtas. As plantas  $F_1$  foram de folhas amareladas e aristas longas, na  $F_2$  foram obtidas 309 plantas com folhas amareladas e aristas longas e 98 plantas de folhas amareladas e aristas curtas. O cruzamento recíproco entre essas duas linhagens produziu, na  $F_1$ , plantas com folhas verdes e aristas longas e, na  $F_2$ , 328 plantas com folhas verdes e aristas longas e 107 plantas com folhas verdes e aristas curtas. Qual a explicação do controle genético desses dois caracteres?

9. Na cevada, a cor das folhas pode ser decorrente de um gene citoplasmático ( $L^1$  = folhas normais, e  $L^2$  = folhas amarelas), ou a um gene nuclear ( $v$ ), sendo o alelo recessivo o responsável por folhas amareladas. Possuindo o citoplasma  $L^2$  a cor será amarela,

independente do genótipo do núcleo. Quais as proporções fenotípicas esperadas a partir dos seguintes cruzamentos?

- a) (♀) Linhagem normal x (♂)  $L^1vv$  (amarelado)  
 b) (♀)  $L^1vv$  (amarelado) x (♂) Linhagem normal  
 c) (♀) Linhagem normal x (♂)  $L^2vv$  (amarelado)  
 d) (♀)  $L^2vv$  (amarelado) x (♂) Linhagem normal  
 e) (♀)  $F_1$  do cruzamento a x (♂)  $F_1$  do cruzamento d  
 f) (♀)  $F_1$  do cruzamento d x (♂)  $F_1$  do cruzamento a

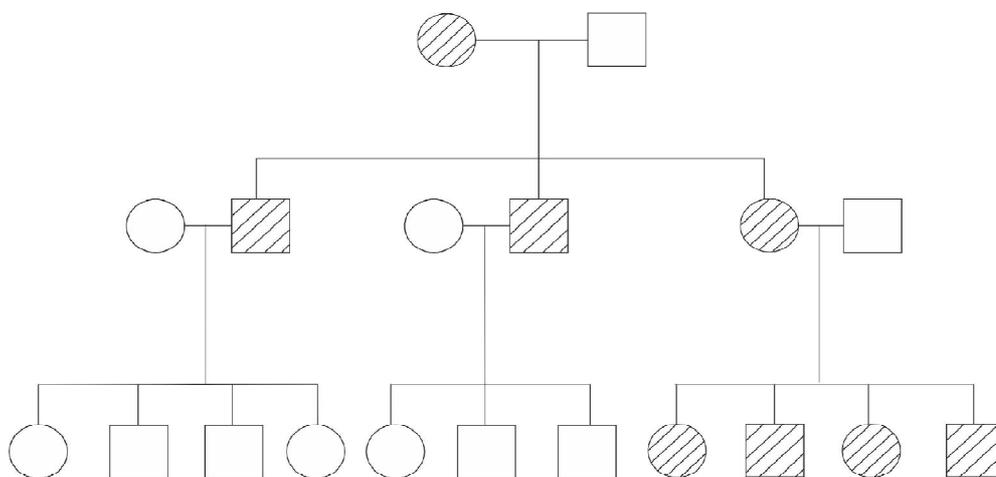
10. Na planta ornamental conhecida por maravilha, as ramificações podem ser verdes, variegadas e brancas. A geração  $F_1$ , proveniente do cruzamento de flores femininas presentes em ramos verdes ou brancos, possui os mesmos fenótipos maternos, independente do genitor masculino. Isso se verifica também para a geração  $F_1$  de qualquer retrocruzamento. Em qualquer cruzamento em que a flor feminina se encontra num galho variegado, a progênie apresenta plantas verdes, variegadas e brancas, independente do fenótipo do genitor masculino.

- a) Qual a explicação para a herança da cor da folha?  
 b) Qual o resultado esperado dos seguintes cruzamentos?

Genitor feminino	Genitor masculino
1. Galho branco	Galho verde
2. Galho verde	Galho branco
3. Galho variegado	Galho branco
4. Galho branco	Galho variegado

11. Um pesquisador descobriu uma planta de cebola macho-estéril em sua plantação. Como proceder para verificar se a esterilidade masculina é decorrente de genes nucleares ou citoplasmáticos?
12. Supondo que a macho esterilidade referida no problema 11 seja decorrente de um gene mitocondrial, como proceder para introduzir esse gene em uma linhagem que será usada na produção de híbridos, de modo que ela mantenha as mesmas características da linhagem original?

13. Uma das causas de macho-esterilidade no milho é decorrente de um gene mitocondrial. Existe também um alelo dominante (Rf) nuclear, que restaura a fertilidade, isto é, plantas Rf são férteis independentes do citoplasma.
- a) Qual a constituição genética de uma planta que ao ser autofecundada produz 75% de descendentes férteis e 25% de descendentes macho-estéreis?
  - b) Qual a constituição genética de uma planta que usada como genitor masculino e que cruzada com uma fêmea macho-estéril, os descendentes são sempre macho-férteis?
  - c) Estabeleça um esquema de cruzamentos para a produção de milho híbrido duplo, utilizando a macho-esterilidade.
  - d) Se for obtida uma linhagem promissora, como proceder para torná-la macho-estéril? Uma vez obtida essa linhagem, como mantê-la?
14. Quais seriam os seus argumentos, para justificar que uma determinada anomalia em suínos, seja controlada por genes citoplasmáticos, a partir da análise de uma árvore genealógica?
15. Considere o seguinte heredograma para uma família de bovinos:



Nesse heredograma os animais identificados com a cor escura possuem uma anomalia respiratória. Qual seria sua hipótese para o controle genético dessa anomalia?

# 17 BIOTECNOLOGIA

## 17.1 INTRODUÇÃO

Biotecnologia é definida como qualquer técnica que utilize organismos vivos ou suas partes, para fazer ou modificar produtos, melhorar plantas ou animais, ou desenvolver microrganismos para usos específicos. De certo modo, o homem tem usado técnicas biotecnológicas desde o início da agricultura, há cerca 12.000 anos. Os primeiros agricultores, por exemplo, no processo de domesticação das plantas, foram capazes de desenvolver estratégias para manipular as plantas e seu ambiente, visando a maximizar a utilização da energia solar e transformá-la em grãos, forragens e fibras. Do mesmo modo, quando os nossos antepassados iniciaram a produção de bebidas via microorganismos que promoviam a fermentação, estavam evidentemente empregando uma técnica biotecnológica.

Entretanto, com os conhecimentos obtidos nas últimas décadas, especialmente em biologia molecular, vislumbrou-se a aplicação de novas técnicas biotecnológicas na obtenção de novos produtos que o homem antes não imaginava. Por exemplo, muitos “cruzamentos” que antes eram considerados pura ficção científica hoje já se mostram perfeitamente executáveis.

Neste tópico, pretendemos fazer um relato sucinto sobre algumas técnicas biotecnológicas. Aqueles que desejarem informações adicionais podem recorrer, entre outras, às seguintes literaturas: Phillips e Vasil (1994); Lewin (2008). O direcionamento adotado será o de mostrar a importância e, principalmente, algumas aplicações das técnicas da biotecnologia para a agropecuária.

## 17.2 TÉCNICAS BIOTECNOLÓGICAS APLICADAS AOS VEGETAIS

### 17.2.1 Cultura de tecidos

Vimos, no Capítulo 4, que uma célula após a mitose origina duas células filhas com a mesma constituição genética. Foi também comentado que todas as células do tecido somático de uma planta ou animal são oriundas da mitose. Assim sendo, toda célula do organismo é **totipotente**, ou seja, é potencialmente capaz de originar um indivíduo idêntico àquele de onde foi retirada. O princípio básico da cultura de tecidos é a aplicação da totipotência

celular, isto é, regenerar plantas a partir de células isoladas não diferenciadas, ou a partir de órgãos e tecidos vegetais. Tais células, colocadas em um meio apropriado, podem dividir-se indefinidamente e até diferenciar-se, o que irá propiciar a regeneração de parte da planta ou então da planta inteira e, dessa forma, milhares de indivíduos podem ser produzidos a partir de uma ou algumas células de um mesmo clone.

Como pode ser facilmente imaginado, a cultura de tecidos é uma forma de multiplicação assexuada, semelhante à adotada pelos agricultores há muitos anos, visando à propagação de determinadas plantas, tais como cana-de-açúcar, mandioca ou batata. A diferença fundamental é que a cultura de tecidos, como já mencionado, possibilita a multiplicação do indivíduo a partir de uma única célula ou de um pequeno número de células. Dessa forma, ela é uma importante ferramenta, não só na genética e no melhoramento de plantas como também pode auxiliar em inúmeras outras áreas da agricultura.

A principal dificuldade da cultura de tecidos é identificar, para cada espécie, qual o meio de cultura mais apropriado para que ocorra a divisão celular e, sobretudo, para “ligar” e “desligar” os genes, no momento e no local apropriado, visando à diferenciação celular e, conseqüentemente, a obtenção de uma planta idêntica àquela de onde a célula ou o conjunto de células foi retirado. Para algumas espécies como fumo, batata, banana, morango e outras, esses meios de cultura já são bem conhecidos. Algumas aplicações serão apresentadas a seguir:

### **17.2.1.1 Limpeza Viral - Cultura de Meristema**

Um dos aspectos da cultura de tecidos que tem fornecido as maiores contribuições é a “limpeza” de cultivares infectadas com vírus. Plantas de propagação vegetativa como batata, morango, abacaxi entre outras, após alguns cultivos simultâneos, começam a apresentar redução de produtividade. A principal razão é a ocorrência de algumas viroses que são transmitidas por meio dos tubérculos ou mudas. A incidência dessas viroses cresce rapidamente e a cultura torna-se inviável se continuar sendo utilizado aquele propágulo anterior. A opção é promover uma limpeza de vírus para reiniciar o processo. A cultura de tecidos contribui enormemente para essa limpeza. Para isso, é preciso utilizar de uma minúscula parte do meristema da planta, tecido responsável pelo crescimento do vegetal, mas ainda não totalmente diferenciado. As razões pelo qual a cultura de meristemas permite a obtenção de plantas livre de vírus, não está completamente elucidada. Acredita-se que, em razão da rapidez da multiplicação das células meristemáticas, as partículas virais não conseguem infectar tais tecidos. Além do mais, o sistema vascular dessas regiões não se encontra completamente desenvolvido, o que dificulta o transporte do vírus para essas partes. É necessário salientar que, no Brasil, algumas empresas já estão utilizando eficientemente essa técnica em algumas culturas, como batata, morango, abacaxi e banana.

### **17.2.1.2 Multiplicação Clonal - Cultura de Gemas ou Segmentos Nodais**

Uma outra aplicação da cultura de tecidos que tem sido intensamente pesquisada no Brasil é a multiplicação de plantas em grande escala. Um dos setores que está mais desenvolvido é o da cultura do eucalipto. Nesse vegetal, a multiplicação via semente, que é o processo ainda empregado, tem como desvantagem a grande desuniformidade nos povoamentos florestais. O eucalipto é de polinização cruzada e, provavelmente, deve possuir grande parte dos locos em heterozigose. Assim, a reprodução sexuada contribui para uma enorme variabilidade genética. As empresas que produzem celulose, carvão ou até mesmo madeira serrada, desejam que as árvores sejam as mais uniformes possíveis. As razões para se desejar a uniformidade são inúmeras, uma delas é a maior produtividade e a facilidade de transporte.

Para reduzir a variabilidade nos povoamentos florestais são selecionadas árvores matrizes, que são multiplicadas por macroestaquia, isto é, brotações que surgem na base das árvores matrizes cortadas. Uma das desvantagens da macroestaquia é a baixa taxa de multiplicação, isto é, conseguem-se apenas 200 a 400 mudas a partir de uma planta. Assim, foi necessário desenvolver tecnologias para tornar o processo mais eficiente. Esses processos foram desenvolvidos por pesquisadores brasileiros, a partir dos anos oitenta do século passado (Assis e Mafia, 2007). Inicialmente, tentaram a micropropagação “in vitro”. O processo mostrou-se tecnicamente viável, mas economicamente inviável. A partir desse conhecimento desenvolveram duas novas estratégias, a microestaquia e a miniestaquia. A diferença básica da miniestaquia em relação ao sistema tradicional (macroestaquia), diz respeito à produção de brotos em plantas de menor porte, obtidas em minijardins clonais.

A diferença entre microestaquia e miniestaquia é que na primeira as microestacas são obtidas a partir da micropropagação “in vitro”, enquanto na miniestaquia, ocorrem em plantas dos minijardins clonais. As miniestacas, são coletadas dos ápices caulinares da própria estaca enraizada pelo método convencional de macroestaquia (Assis e Mafia, 2007).

### **17.2.1.3 Manutenção de Germoplasma - Cultivo em Meio Mínimo**

Também tem sido utilizada a cultura de tecidos para a manutenção de bancos de germoplasma. Essa técnica é especialmente promissora para aquelas espécies cuja reprodução é predominantemente assexuada. Nesse caso, as plantas são perpetuadas em tubos de ensaio ocupando um espaço muito pequeno. Além disso, a movimentação de germoplasma é mais fácil e com menor risco de introdução de patógenos, uma vez que, no sistema in vitro, a ocorrência de doenças é praticamente nula. No Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), situado na Colômbia, o germoplasma de mandioca tem sido mantido dessa forma, o mesmo acontecendo no caso da batata no Centro Internacional de La Papa (CIP), situado no Peru. Também, no Brasil, na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia ou Centro

Nacional de Recursos Genéticos (CENARGEN), da EMBRAPA, essa técnica está sendo implantada com a mesma finalidade.

#### 17.2.1.4 Obtenção de Haplóides – Cultura de Anteras e Óvulos

Muitas vezes em programas de melhoramento há necessidade de se obterem linhagens, ou seja, indivíduos com a maioria dos locos em homozigose. Como já foi comentado, para se ter um genótipo com a maioria dos locos em homozigose, é necessário que as plantas sejam submetidas a sucessivas autofecundações, normalmente por seis a oito gerações. Portanto, esse é um processo demorado. Para reduzir esse tempo, pode-se utilizar da cultura de anteras ou dos óvulos. Nas espécies diplóides os grãos de pólen e a oosfera são células haplóides, em razão da ocorrência da meiose. Sendo assim, por intermédio da cultura desses órgãos, são obtidas plantas haplóides, que, após serem submetidas a um tratamento com colchicina, terão o número de cromossomos duplicado, restabelecendo a condição diplóide. Essas plantas assim obtidas serão homozigóticas para todos os locos. Especialmente para aquelas espécies, cujo ciclo reprodutivo é longo, essa técnica é muito promissora.

Na literatura, são encontradas referências sobre o emprego da cultura de anteras com relativo sucesso em algumas culturas, especialmente arroz, trigo e fumo. No melhoramento do trigo, vem sendo utilizada a cultura de oosfera – núcleo reprodutivo do saco embrionário – visando à obtenção de plantas haplóides. O procedimento utilizado nesse caso consiste em polinizar plantas de trigo com pólen de milho que, evidentemente, não fertiliza a oosfera, entretanto, estimula o desenvolvimento do embrião a partir da oosfera, permitindo a obtenção de planta haplóide.

O emprego de duplo haplóides (DH) tem despertado grande atenção na cultura do milho. Como foi visto, no capítulo 12, na obtenção do milho híbrido, é necessário de sete a oito gerações de autofecundação para a obtenção de linhagens. Essas são cruzadas posteriormente visando à obtenção dos híbridos comerciais. Especialmente as grandes empresas multinacionais realizam milhões de autofecundações por ano. Para acelerar o processo e reduzir o custo, estão desenvolvendo DH. O processo foi facilitado porque foram identificados genes que induzem a ocorrência de plantas haplóides. Essa indução, pode ser tanto do lado feminino como masculino. Um desses genes indutor foi encontrado na linhagem Stock 6, que é indutor do lado materno (Zhang et al., 2008). Quando a planta que se deseja obter o haplóide é polinizada com polén da Stock 6, de 1 a 2% dos descendentes são haplóides. Para identificar as plantas haplóides das normais é utilizado um alelo marcador. Por exemplo, o genitor feminino possui o genótipo aleurona incolor, em decorrência de um alelo recessivo do gene R-navajo. Já, o genitor masculino, a Stock 6, possui o alelo dominante, Rnj que confere a cor roxa na semente. Após a fertilização, toda a semente, que for incolor, rnj é porque ela foi produzida sem a interferência do gameta Rnj do indutor. Portanto, é haplóide. Todas que forem roxas (Rnj rnj), são diplóides.

As plantas haplóides posteriormente terão seus cromossomos duplicados, ainda bem jovens, utilizando, por exemplo, colchicina. Obtendo-se assim, indivíduos completamente homozigóticos (DH). As empresas estão investindo muito nessa tecnologia, obtendo alguns milhares de plantas DH para acelerar o programa de obtenção de híbridos.

#### 17.2.1.5 Obtenção de Híbridos Interespecíficos - Cultura de Embriões

Para solucionar alguns problemas, tais como: tolerância a patógenos ou insetos e estresse ambiental, o melhorista, não encontrando variabilidade dentro da espécie, é obrigado a recorrer aos cruzamentos interespecíficos. Como já foi mencionado (Capítulo 15) existem barreiras que podem dificultar o sucesso desses cruzamentos. Essas barreiras são em grande número do tipo pós-zigóticas, e costumam ser superadas por meio da técnica de cultura de embriões *in vitro*. A cultura de embriões vem sendo usada há longo tempo, envolvendo espécies relacionadas. Existem relatos de mais de 80 híbridos interespecíficos ou até mesmo intergenéricos obtidos por esta técnica.

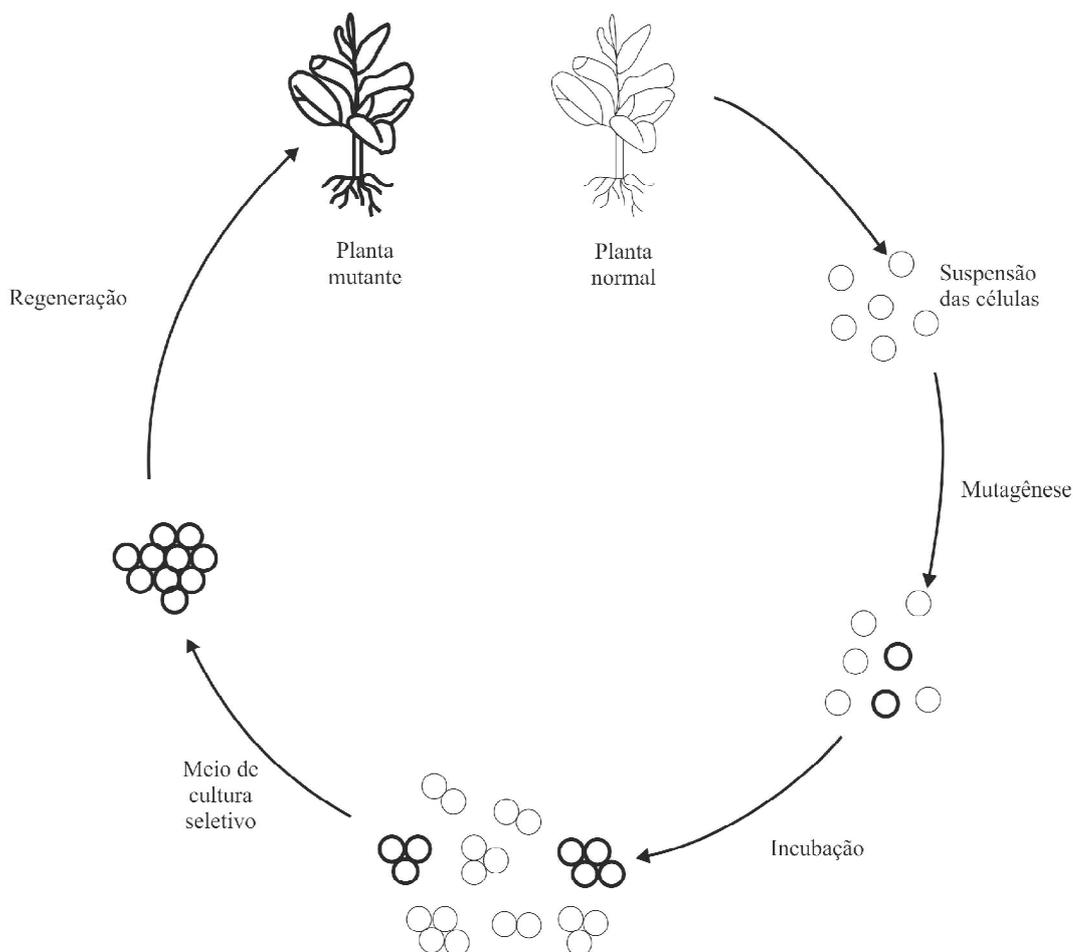
#### 17.2.1.6 Seleção *in vitro* – Variação Somaclonal

Como já foi mencionado, o uso da cultura de tecidos para a propagação clonal é baseado na suposição de que os tecidos permanecem geneticamente estáveis quando retirados da planta matriz e colocados em meio de cultura. Essa suposição é válida quando a multiplicação ocorre por meio do desenvolvimento de gemas axilares ou brotos adventícios, retirados diretamente da planta matriz. Entretanto, em casos em que a formação de brotos é induzida a partir de calos, plantas “aberrantes” são frequentemente produzidas. A variabilidade fenotípica observada entre células e plantas regeneradas - **variação somaclonal** - não pode ser assumida como resultante apenas de causas genéticas. Respostas fisiológicas às anomalias ambientais bem como alterações epigenéticas podem também contribuir para tal variabilidade. Eventos epigenéticos refletem alterações na expressão gênica, que são relativamente estáveis, podendo persistir por meio da mitose e se expressar nas células filhas. Entretanto, em contraste com alterações fenotípicas, decorrentes de causas genéticas, aquelas resultantes de fatores epigenéticos tendem a não se expressar em plantas regeneradas ou sua progênie.

A variabilidade entre plantas regeneradas de cultura de calos é aproximadamente dez vezes maior que entre plantas desenvolvidas de gemas cotiledonares. A importância desse fato é que a abundância de variabilidade decorrente da cultura de tecidos fornece perspectivas de seleção para fenótipos novos. Além do mais, o tratamento com mutagênicos químicos ou físicos pode aumentar ainda mais a variabilidade existente, permitindo o aparecimento de mutantes com potencialidades agrônômicas.

Para isolar esses mutantes, técnicas aplicáveis aos microrganismos devem ser utilizadas. Por exemplo, seleção para resistência a *Helminthosporium sacchari* foi realizada em plantas de cana-de-açúcar regeneradas a partir de calos provenientes de suspensão de células

cultivadas em meio de cultura contendo a toxina do fungo. Generalizando esse procedimento, pode-se dizer então que a incorporação no meio de cultura de substâncias tóxicas ou inibidoras do crescimento, permite o desenvolvimento apenas de poucas células resistentes da população, as quais podem ser regeneradas, dando origem a uma planta mutante (Figura 17.1).



**FIGURA 17.1.** Representação esquemática de um procedimento geral para seleção de mutantes em cultura de tecidos vegetais. (Adaptado de Chaleff, 1983).

### 17.2.2 Obtenção de híbridos somáticos - fusão de protoplastos

Dá-se o nome de **protoplasto** à parte viva da célula. Em outras palavras, protoplasto é uma célula que tem sua parede removida. Já em 1910, foi constatado que protoplastos mantidos em soluções com sais de cálcio podiam entrar em contato e, eventualmente, fundir seus conteúdos. Esse processo é denominado fusão de protoplastos.

Com o desenvolvimento de métodos enzimáticos eficientes para o isolamento de protoplastos, na década de 70 do século passado, grandes quantidades tornaram-se disponíveis para estudos de fusão. Essa fusão se inicia por meio da adesão de membranas de protoplastos adjacentes. Nos pontos de contato entre as membranas ocorre dissolução das mesmas, o que permite a mistura dos dois citoplasmas com os dois núcleos - **dicáron**.

Um dicáron é chamado **homocariócito** se os dois núcleos são idênticos e **heterocariócito** se os dois núcleos são geneticamente diferentes. Numerosos compostos químicos ou condições físicas têm sido testados para induzir a fusão de protoplastos, mas o maior avanço ocorreu com a descoberta do composto polietileno glicol - PEG -, que tem-se mostrado eficiente para todas as espécies vegetais. Uma outra técnica eficiente é a eletrofusão, pela qual a fusão de protoplastos se dá num campo elétrico desuniforme por meio de um pequeno pulso de corrente elétrica.

A descoberta de que protoplastos podem se fundir com relativa facilidade propiciou o desenvolvimento de uma metodologia genética que recebeu o nome de **hibridação somática**. A importância da hibridação somática é que espécies sexualmente incompatíveis podem se recombinar por meio da fusão de protoplastos, possibilitando assim, o surgimento de novas combinações genéticas. Deve ser salientado que combinações entre genomas não aparentados são regularmente seguidas de eliminação de cromossomos dos genitores, o que impede muitas vezes a formação de híbridos. Para espécies relacionadas, geralmente a eliminação de cromossomos é parcial, de modo que a introdução de certas características genéticas se torna possível. É necessário enfatizar que a eliminação dos cromossomos é aleatória, o que torna muito difícil o direcionamento do processo visando a incorporar somente aqueles cromossomos de maior interesse.

Existem muitos exemplos citados na literatura de híbridos somáticos. Um caso interessante é o híbrido entre a batata - *Solanum tuberosum* ssp *tuberosum*,  $2n = 48$  - e tomate - *Solanum lycopersicum*,  $2n = 24$ . Essas duas espécies pertencem à família Solanaceae, mas não são sexualmente compatíveis. Em 1978, híbridos somáticos foram obtidos mediante a fusão de protoplastos de células di-haplóides de batata com células foliares de tomate. Algumas plantas formaram estolões parecidos com tubérculos, mas nenhuma produziu frutos.

Híbridos somáticos tais como esses produzidos entre batata e tomate não possuem valor imediato. No entanto, eles são o ponto de partida para um futuro esquema de introdução de genes e formação de novas combinações genéticas. Evidências têm-se acumulado, principalmente em batatas, indicando que translocações cromossômicas são frequentes em plantas regeneradas de protoplastos, permitindo, desse modo, que segmentos cromossômicos de uma espécie sejam introduzidos em outra espécie diferente. Acredita-se que, num futuro próximo, a fusão de protoplastos ofereça oportunidade para a criação de híbridos somáticos

entre espécies afins. Desse modo, cultivares comerciais de batata, as quais não se cruzam com muitas espécies do gênero *Solanum*, poderiam receber, por exemplo, genes de *S. tuberosa*, que conferem resistência ao vírus do enrolamento das folhas.

No Brasil, a técnica de fusão de protoplastos tem sido empregada com sucesso em alguns microorganismos, como foi o caso do melhoramento genético do fungo *Metarhizium anisopliae*, utilizado no controle biológico de insetos. Também no melhoramento de fruteiras, especialmente citrus ela tem sido avaliada. Carvalho et al. (2007) procurou obter híbridos interspecíficos entre tangerina (*Citrus reticulata*) e toranja (*Citrus grandis*), visando à obtenção de novos porta-enxertos. Como fonte de protoplastos foram utilizadas suspensões celulares embriogênicas e folhas jovens de “seedlings”. Foram regeneradas 17 plantas com fenótipo bem distinto de ambos os genitores. Essa é uma estratégia que se espera os melhores resultados, pois é realizada a fusão de protoplastos de espécies bem semelhantes. Nessa condição, a rejeição deve ser menor, e haverá chance de recombinação entre os cromossomos das duas espécies. Contudo, o processo não deixa de ser aleatório, mistura-se os cromossomos na esperança de que apareçam boas combinações.

Outro exemplo de sucesso dos geneticistas brasileiros foi obtido com o fumo. O fumo cultivado pertence a espécie *Nicotiana tabacum* é suscetível ao nematoide *Meloidogyne javanica* e não se conhece fonte de resistência dentro da espécie. Já plantas da espécie *Nicotiana repanda* apresentam resistência a esse nematoide. Contudo, as duas espécies não se cruzam pelo método tradicional. Por meio da fusão de protoplastos foi possível obter plantas bem semelhantes a *tabacum* e resistentes ao nematoide *M. javanica*.

### 17.2.3 Tecnologia do DNA recombinante - transgênicos

Como sabemos, na natureza, os seres vivos são organizados em grupos distintos e o menor nível de organização é a espécie. Vimos no capítulo sobre Evolução que as espécies se mantêm individualizadas, pois os indivíduos de uma mesma espécie só se cruzam entre si deixando descendentes férteis e viáveis, não havendo, portanto, troca de alelos entre indivíduos de espécies diferentes.

Utilizando técnicas especiais, especialmente cultura de embrião, alguns cruzamentos entre indivíduos de espécies diferentes foram realizados pelo homem. Contudo, a introdução de genes entre espécies não relacionadas, pertencentes a gêneros diferentes e às vezes até reinos diferentes, só se tornou possível a partir da década de setenta, por meio da manipulação da molécula de DNA, constituindo uma nova área da genética que é denominada de **tecnologia do DNA recombinante** ou **engenharia genética**. Como resultado dessa nova área de atividades, tornou-se possível a criação de combinações gênicas inexistentes na natureza e, principalmente, a transferência de genes entre espécies isoladas reprodutivamente, sendo produzidos os **transgênicos**, também chamados de organismos geneticamente modificados (OGM).

A tecnologia dos transgênicos é um bom exemplo, que uma nova técnica surge a partir de inúmeros conhecimentos básicos. Nesse caso particular, alguns deles comentados anteriormente, tais como o trabalho de F. Griffith, em 1928 e Avery, MacLeod e McCarty em 1944, mostrando que o DNA era o responsável pela transmissão da informação biológica. A estrutura da molécula elucidada por Watson e Crick, em 1953, que foi a base de todo o desenvolvimento da biologia molecular. A descoberta das enzimas de restrição, por Arber em 1968, como será comentado a seguir, corta o DNA em pontos específicos. Pouco tempo depois, em 1973, Stanley, Chen e Brown mostraram que era possível, utilizando as enzimas de restrição, isolar um gene e introduzi-lo em outro organismo. Anteriormente, em 1972, nos EUA, Paul Berg conseguiu unir a sequência do DNA de *Escherichia coli* à do vírus *Semius pampiloma*. Esse pode ser considerado o marco zero da era da tecnologia do DNA recombinante. O primeiro exemplo, bem sucedido de um produto comercial produzido foi a insulina humana (BOX 17.1).

As técnicas utilizadas na produção de um transgênico tem-se alterado ao longo do tempo. Contudo, todas elas têm como princípio identificar e isolar o gene da espécie doadora, preparar esse gene e proceder sua transferência para espécie receptora. Deve-se certificar que ele seja transmitido para os descendentes de modo análogo aos demais genes e que a sua introdução proporcione a vantagem esperada. Adicionalmente, tem que passar por um processo regulatório, antes de ser recomendado comercialmente.

**BOX 17.1** PRIMEIRO CASO DE SUCESSO NA OBTENÇÃO DE UM PRODUTO COMERCIAL VIA TECNOLOGIA DO DNA RECOMBINANTE: Insulina Humana

Até as duas primeiras décadas do século XX, a ocorrência de diabetes era normalmente letal. O pâncreas interrompe a produção de insulina. Nessa condição, mesmo com jejum e outras alternativas, ocorria aumento da glicose no sangue. Em consequência havia diurese maciça, desidratação, fraqueza profunda do organismo e fome. Isso ocorre porque é a insulina que transporta a glicose para dentro das células (armazena nutrientes).

A insulina foi descoberta em 1921. As primeiras insulinas produzidas em escala comercial eram retiradas de pâncreas de bovino e suíno. Embora ela solucionasse o problema na maioria dos indivíduos, alguns apresentaram alergia, sobretudo em decorrência das impurezas. Na década dos anos sessenta, do século passado, as insulinas produzidas eram mais puras. Contudo, com o crescimento da população e o aumento dos casos de diabetes, a demanda total por insulina dificilmente poderia ser conseguida por meio do pâncreas de animais mortos de suínos e bovinos.

Uma das empresas farmacêuticas envolvida na produção de insulina é a Eli Lilly and Company, em conjunto com a empresa de biotecnologia Genentech Inc. que isolaram os genes da insulina humana, e tiveram sucesso na obtenção da insulina por meio da tecnologia do DNA recombinante. Johnson (1982) então vice-presidente da empresa farmacêutica relatou o que foi realizado para a produção comercial. Os genes das duas cadeias polipeptídicas que constituem a insulina foram introduzidas em um cepa da bactéria *Escherichia coli*, denominada K-12. Essa bactéria passou a produzir as duas cadeias A e B e secretá-las. Após o isolamento e purificação as cadeias protéicas A e B foram aglutinadas por meio de pontes de dissulfeto, “in vitro”, originando a insulina humana transgênica. O sucesso do processo foi anunciado em 6/09/1978. Demorou algum tempo, em decorrência de, sobretudo, alguns processos regulatórios para que ela fosse produzida em escala comercial.

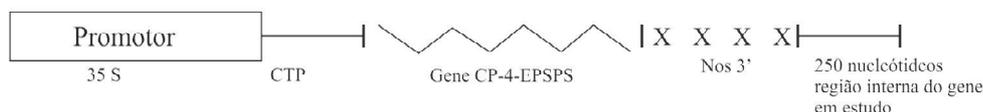
### 17.2.3.1 Obtenção de plantas transgênicas

Será utilizado como referência o processo que originou o primeiro transgênico com enorme repercussão na agricultura, isto é, a planta de soja tolerante ao herbicida glifosato, também conhecido como roundup. O modo de ação do glifosato é apresentado no BOX 17.2. O processo foi apresentado com detalhe por Padgett et al. (1995) e será sucintamente descrito a seguir. A ação do herbicida ocorre em uma enzima, a 5-enolpiruvil chiquimato-3fosfato sintase (EPSPS). É uma enzima envolvida na biossíntese dos aminoácidos aromáticos (tirosina, fenilalanina e triptofano). O glifosato inibe a ação da EPSPS, impedindo a produção dos aminoácidos mencionados. Sem eles, o indivíduo morre. Assim, a ação desse herbicida só ocorre nos vegetais; bactérias e fungos. Nos animais que não sintetizam esses aminoácidos não há ação do herbicida. Nas plantas, a enzima EPSPS está localizada nos cloroplastos ou plastídeos.

Foi constatado na natureza, que algumas bactérias e até mesmo plantas como a petúnia possuíam bom nível de tolerância ao herbicida. Verificaram, por exemplo, que a *Agrobacterium* sp. Cepa CP4 tinha alta tolerância ao glifosato. Identificaram o gene que foi isolado e clonado, utilizando as enzimas de restrição (BOX 17.3).

Uma vez identificado e clonado, o gene foi preparado, “engenheirado”, utilizando a expressão de Padgett et al., (1995). Para isso, o gene foi colocado em plasmídeo junto com vários outros genes ou regiões do DNA de outros organismos que são indispensáveis para a transcrição e atuação do transgênico. Um desses genes é o CTP, derivado da petúnia e produz um peptídeo indispensável ao trânsito da enzima produzida. Isso foi necessário porque

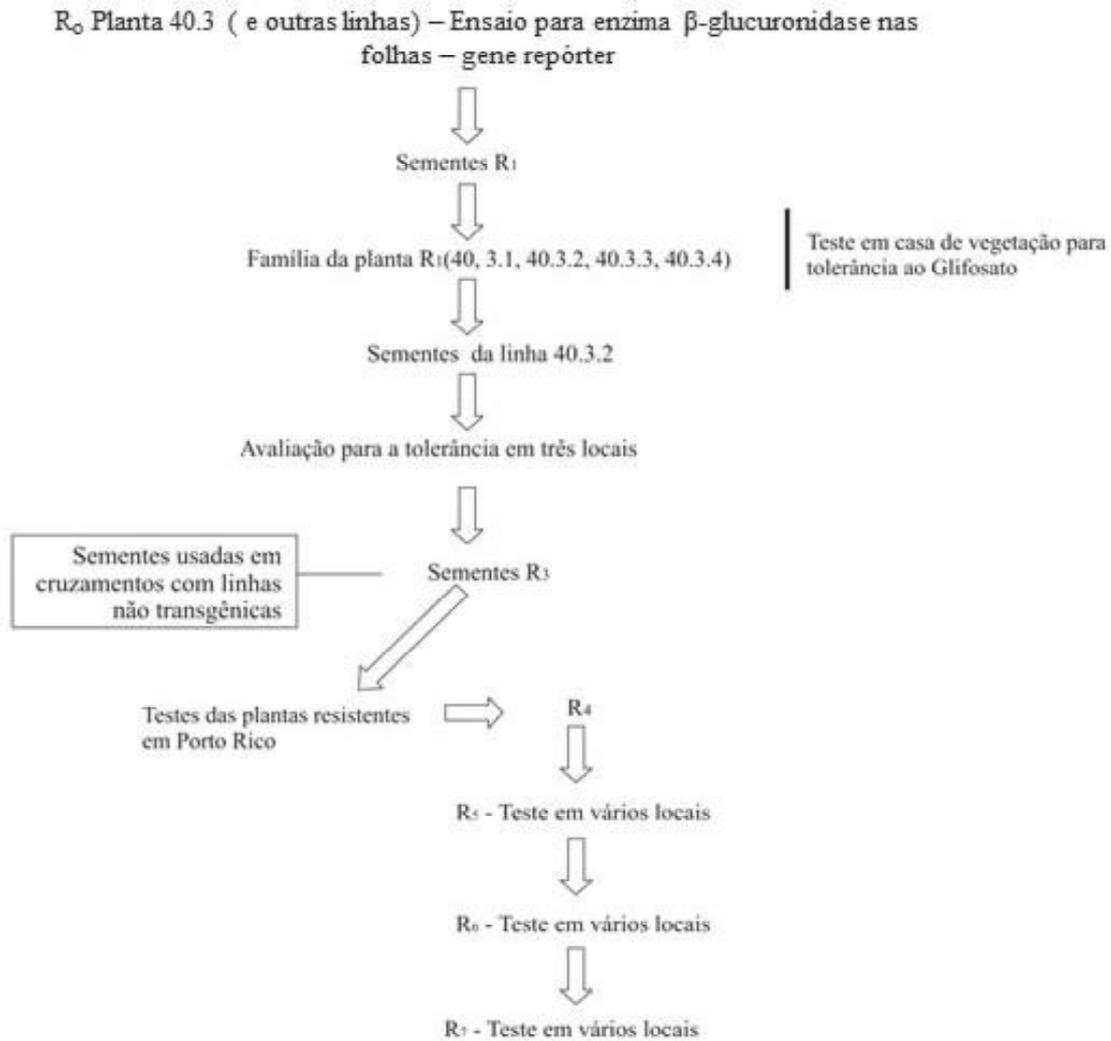
a síntese da enzima EPSPS ocorre no citoplasma e ela atua no cloroplasto e, portanto, deve migrar para esse local. Sem esse peptídeo de trânsito, ela não tem como atuar. Além do mais, a construção gênica, também denominada cassete de transferência, continha ainda uma região promotora derivada do vírus do mosaico da couve-flor (CAMV). Sem essa região, não há como a RNA polimerase transcrever o gene no hospedeiro. Outro segmento de DNA foi o NOS 3', a região não traduzida do gene da nopalina sintetase, que é uma marca de seleção (BOX 17.4), gene npt 11, que confere resistência ao antibiótico canamicina. Foi adicionado também a origem de replicação para se ter maior número de cópias do gene e o gene GUS, gene repórter (BOX 17.5). Esse último gene codifica para  $\beta$ -glucuronidase, conferindo a cor azul nos tecidos que possuem o gene. Na Figura 17.2, apresenta-se o esquema do cassete do gene que foi introduzido na planta de soja transformada. Esse cassete foi construído em um plasmídeo (PV-GMG T04) que foi mantido em bactéria.



**FIGURA 17.2.** Parte de como foi construído o gene.

Uma vez obtida a construção gênica é necessário introduzi-lá no hospedeiro. No caso, a planta de soja. Isso pode ser realizado por meio de um vetor ou veículo do gene. Existem vários vetores (BOX 17.6). No caso, foi empregado o processo de microprojétil, ou acelerador de partículas ou biobalística. A cultivar A5403 de soja foi empregada como hospedeira. Não foi relatado o número de projéteis utilizados para inserir o gene no cromossomo de células de tecidos embrionários de soja. Provavelmente, foi um número expressivo. A presença do gene nos tecidos do hospedeiro pode ser constatada pela ocorrência da cor azul no tecido, decorrente do gene GUS, mencionado como repórter, pois fornece a notícia que o gene foi inserido.

Um total de 316 plantas de soja foram transformadas no período de junho de 1990 a agosto 1991. Dessas, 14 plantas  $R_0$  – primeira geração após a transformação, foram avaliadas em casa de vegetação com relação à tolerância. Uma dessas plantas originou a progênie 40.3 - geração  $R_1$  - que apresentou o mais expressivo nível de tolerância. Essa progênie foi selecionada e avaliada novamente, junto com outras progênies. A progênie 40.3 só produziu quatro sementes, que originaram as progênies na geração  $R_2$ , 40.3.1, 40.3.2, 40.3.3 e 40.3.4. A progênie 40.3.2 se destacou e foi então novamente avaliada e cruzada, pelo método convencional, com outras linhagens comerciais visando à introdução do gene para outras linhagens (Figura 17.3). Essa planta 40.3.2 foi a genitora de todas as plantas de soja, denominadas RR, resistentes ao Roundup cultivadas no planeta.



**FIGURA 17.3.** Como foi realizada a introdução do gene da resistência ao roundup em soja. Fonte: Padgett et al. (1995).

Eles fizeram posteriormente várias análises moleculares e verificaram que apenas parte do cassete do gene permaneceu na planta 40.3.2. A parte final do gene que continha o gene de resistência ao antibiótico, por exemplo, foi perdida. Uma enorme sorte, pois facilitou o processo de liberação comercial do transgênico obtido.

As vantagens que esse transgênico proporcionou no manejo da cultura da soja foram enormes. As questões regulatórias atrasaram em muito a liberação comercial da soja RR no mundo. No Brasil, por exemplo, a liberação comercial ocorreu efetivamente a partir de 1998. Contudo, o cultivo não foi possível, em razão de inúmeras liminares judiciais que impediram a liberação por vários anos. A partir do momento em que ocorreu a liberação comercial a

adoção foi muito rápida. Já, em 2009, mais de 16 milhões de hectares foram utilizados com cultivares de soja resistentes ao glifosato.

Outras alternativas de obtenção de plantas transgênicas estão sendo criadas. O avanço no sequenciamento do DNA e estudo do genoma, tem permitido que inúmeros genes sejam identificados. Desse modo, o potencial de se utilizar transgênicos no futuro é enorme. Uma tendência que tem ocorrido é fazer construção gênica a partir do gene da própria espécie. A resistência ao glifosato em milho, por exemplo, mais recentemente tem sido obtida desse modo. Os geneticistas sequenciaram o gene da enzima EPSPS do milho e compararam com o mutante, tolerante ao herbicida. A mudança normalmente ocorre em um ou dois aminoácido. Desse modo, induzem a mutação do gene isolado e o reintroduz na planta hospedeira.

#### **BOX 17.2. O HERBICIDA GLIFOSATO**

As plantas invasoras, ou seja, todas as aquelas plantas diferentes da espécie cultivada, estão entre os maiores problemas da agricultura em todo mundo. Elas competem, com a planta cultivada, em nutriente, luz e água reduzindo a produtividade. Adicionalmente, dificultam manejo, especialmente a colheita, de grande parte das plantas cultivadas. Entre as alternativas de controle, a mais utilizada por inúmeras razões são os herbicidas. Produtos químicos, normalmente seletivos para planta cultivada. Um dos herbicidas de maior impacto na agricultura em todo planeta é o glifosato. Antes mesmo de se obterem plantas transgênicas resistentes ao glifosato, ele já representava mais de 60% de todos os herbicidas comercializados no mundo.

O glifosato foi criado pela multinacional Monsanto, em 1970 e obteve registro nos Estados Unidos, em 1974. A patente já espirou em 1991 e atualmente inúmeras empresas produzem e comercializam o glifosato. É um herbicida que é aplicado após a emergência da planta invasora, é sistêmico e não seletivo, ou seja, mata todas as plantas. Por isso, o seu uso antes do advento das plantas transgênicas, especialmente no Brasil, era nas áreas de plantio direto como dessecante, em plantios comerciais, especialmente de plantas perenes em aplicações direcionadas às plantas invasoras.

Ele atua no metabolismo de aminoácidos aromáticos em uma rota conhecida como Chiquimato. Dessa forma, tem ação em todas as plantas e microrganismos. Nos animais, que não possuem essa rota de metabolismo de aminoácidos, ele não atua. É um ácido orgânico cujo nome é N-fosfonometil glicina.

**BOX 17.3. O QUE SÃO ENZIMAS DE RESTRIÇÃO?**

São enzimas capazes de cortar o DNA em pontos específicos. Assim, elas funcionam como tesouras biológicas. Cada uma é capaz de reconhecer uma sequência específica do DNA. As enzimas de restrição são denominadas em função do nome da bactéria que a possui como pode ser visto a seguir.

Bactéria	Nome da Enzima	Sequência alvo no DNA
<i>Arthrobacter luteus</i>	<i>Alu</i> I	5' A G ↓ C T 3' 3' T C ↑ G A 5'
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	<i>Bam</i> HI	5' G ↓ GATCC 3' 3' CCTAG ↑ G 5'
<i>Escherichia coli</i>	<i>Eco</i> RI	5' G ↓ AATTC 3' 3' CTTAA ↑ G 5'
<i>Haemophilus aegyptius</i>	<i>Hae</i> II	5' PuGCGC ↓ Pi 3' 3' Pi ↑ CGCG Pu 5'
<i>Haemophilus aegyptius</i>	<i>Hae</i> III	5' GG ↓ CC 3' 3' CC ↑ GG 5'
<i>Haemophilus haemolyticus</i>	<i>Hha</i> I	5' GCG ↓ C 3' 3' C ↑ GCG 5'
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Hind</i> II	5' GTPi ↓ PuAC 3' 3' CAPu ↑ PiTG 5'
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Hind</i> III	5' A ↓ AGCTT 3' 3' TTCGA ↑ A 5'
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Hpa</i> I	5' GTT ↓ AAC 3' 3' CAA ↑ TTG 5'
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Hpa</i> II	5' C ↓ CGG 3' 3' GGC ↑ C 5'
<i>Serratia marcescens</i>	<i>Sma</i> I	5' GGG ↓ CCC 3' 3' CCC ↑ GGG 5'
<i>Streptomyces albus</i>	<i>Sal</i> I	5' G ↓ TCGAC 3' 3' C AGCT ↑ G 5'
<i>Xanthomonas oryzae</i>	<i>Xor</i> II	5' C GATC ↓ G 3' 3' G ↓ CTAGC 5'

Cada enzima, ao reconhecer uma sequência específica de DNA, realiza o corte da sequência na posição indicada pelas setas. Quando as duas cadeias do DNA são cortadas

na mesma posição, são produzidas extremidades rombudas e quando são cortadas em posições diferentes, as extremidades geradas são chamadas de coesivas. As enzimas de restrição reconhecem sequências com diferentes números de pares de base, geralmente de quatro a seis. Assim, as enzimas que reconhecem sequências com quatro pares de base cortam o DNA genômico em um maior número de fragmentos menores e aquelas que reconhecem sequências de seis pares de base, cortam o DNA genômico em um menor número de fragmentos maiores. Isso acontece porque se essas sequências se distribuissem ao acaso no genoma, uma sequência específica com quatro pares de base ocorreria a cada 256 pares de base, e uma sequência específica com seis pares de base seria esperada no genoma a cada 4096 pares de base.

#### **BOX 17.4. O QUE SÃO MARCAS DE SELEÇÃO?**

Após a obtenção do cassete de transformação ele precisa ser clonado. Para isso, ele é inserido em um plasmídeo que se multiplica geralmente em *E. coli*. Nessa etapa, a marca de seleção permitirá a clonagem somente das *E. coli* transformadas.

Quando se realiza a transferência de um gene para uma população de células ou de protoplastos de uma espécie receptora, é necessário selecionar somente as células que foram transformadas. Tais células são, então, cultivadas em meios de culturas apropriadas para regenerarem apenas as plantas transformadas. A identificação das células transformadas é feita por meio da **marca de seleção**. As mais comumente usadas são genes para resistência aos antibióticos, como a canamicina e, mais recentemente, principalmente herbicidas. Quando se adiciona o DNA recombinante para a transformação das células receptoras, aquelas efetivamente transformadas irão expressar resistência à canamicina ou herbicida, a qual causará a morte das outras células não transformadas.

**BOX 17.5 - O QUE É GENE REPÓRTER?**

Quando se realiza a transferência de genes entre espécies, um teste essencial é verificar se a espécie receptora transformada está expressando o gene de interesse. No entanto, a transformação é feita em células isoladas ou em tecidos embrionários, os quais devem regenerar plantas. Assim, é imprescindível checar se eles estão realmente transformados, para, em seguida, proceder à regeneração de plantas.

Para contornar essa dificuldade vem sendo utilizado um gene repórter, que codifica para uma enzima, facilmente detectada e que não é um produto natural da planta transformada. Portanto, o gene repórter é ligado junto com o gene de interesse, e ambos são regulados pelo mesmo promotor constitutivo. Um dos genes repórteres é o gene GUS que codifica a enzima  $\beta$ glucuronidase, cuja expressão pode ser facilmente detectada mesmo em uma única célula, bastando, para isso, a adição na célula ou tecido do substrato da enzima que, após metabolizado, produz uma substância que se cora de azul. Portanto, constatando-se a expressão do gene repórter, deduz-se que o gene de interesse também deve estar se expressando e pode-se então promover a regeneração da planta que deverá expressar o gene de interesse.

**BOX 17.6 - VETORES E SUA APLICAÇÃO NA TECNOLOGIA DO DNA RECOMBINANTE.**

A transferência dos genes para o interior do hospedeiro é realizada por meio de vetores. Esses vetores podem realizar a transferência indireta ou direta.

**Transferência indireta**

Um dos procedimentos de transferência de genes para plantas é a partir do uso de uma bactéria, a *Agrobacterium tumefaciens*, por meio de seu plasmídeo chamado de **Ti**. O plasmídeo é semelhante a um pequeno cromossomo, e ocorre na bactéria além do seu cromossomo normal. É geralmente circular, autônomo para se replicar e portador de alguns genes. A razão para o uso do plasmídeo Ti como **vetor** de genes em engenharia genética, é porque já se sabia da capacidade da *Agrobacterium* causar galhas nas dicotiledôneas em geral. Além disso, a formação de galha ocorre mesmo após a bactéria já estar ausente do tecido com supercrescimento. Isso ocorre porque o plasmídeo possui um fragmento de DNA (DNA T) com cerca de 23kb, que possui nas suas extremidades uma sequência de bases que são reconhecidas por enzimas que realizam a sua incorporação no cromossomo

da planta. Como o DNA T possui genes para fitohormônios, eles continuam estimulando o supercrescimento do tecido, mesmo na ausência da bactéria. No entanto, os genes para fitohormônios podem ser retirados do DNA T, e o plasmídeo resultante continua com habilidade para integrar-se ao cromossomo da planta, porém sem induzir a formação de galha. Esse plasmídeo artificial, dito desarmado, é vendido no comércio e pode ser utilizado como vetor de genes.

Para se fazer transferência de genes utilizando o plasmídeo Ti desarmado, em primeiro lugar realiza-se a construção do gene de interesse, incluindo sítios promotor e de término de transcrição e os genes para marca de seleção e repórter. Além disso, nas extremidades desse gene de interesse, adiciona-se um ligador sintético, que é reconhecido por uma enzima de restrição, por exemplo a *Eco* RI. Em seguida, o plasmídeo Ti circular é linearizado, utilizando-se a mesma enzima de restrição. Quando se misturar ao gene construído com o plasmídeo linearizado, eles se ligarão por meio das extremidades coesivas, formando, agora, um plasmídeo Ti com o gene integrado. Se esse plasmídeo for colocado na *A. tumefaciens* e, em seguida, a bactéria for usada para infectar a planta que queremos transformar, o plasmídeo recombinante irá integrar-se no cromossomo vegetal de algumas células juntamente com o gene de interesse, produzindo assim algumas células transformadas. Quando essas células forem multiplicadas em um meio de cultura, serão produzidos calos, dos quais serão regeneradas plantas transformadas.

Um dos problemas da *A. tumefaciens* é a sua incapacidade de infectar algumas dicotiledôneas e quase todas as monocotiledôneas, tornando-se assim um vetor limitado para uso em apenas algumas espécies de dicotiledôneas.

### **Transferência direta**

Nesse caso, a construção gênica é colocada no DNA dentro de células intactas, com parede celular. Entre os procedimentos, um dos que vêm sendo mais usado é a biobalística, também denominado canhão de genes.

A biobalística é realizada por meio de um equipamento que realiza um tiro com esferas de ouro ou de tungstênio, com um diâmetro de cerca de 2mm. Para isso, o aparelho usa ar comprimido, o que imprime uma alta velocidade nas esferas que atingem o tecido vegetal a ser transformado - normalmente embriões imaturos - atravessando-os, e são coletadas em um anteparo. Para isso, prepara-se uma solução contendo espermidina e cloreto de cálcio, que auxilia na adesão do DNA em torno das partículas. Em seguida, elas são atiradas, atravessando embriões imaturos ou outro tipo de tecido, no trajeto, deixam o DNA no interior de algumas células. Uma pequena porcentagem das células atingidas pelos microprojéteis integram o gene nos cromossomos.

## **17.3 TÉCNICAS BIOTECNOLÓGICAS APLICADAS AOS ANIMAIS DOMÉSTICOS**

### **17.3.1 Cultura de Tecidos Animais. Emprego de Células Tronco**

As células tronco (CT) a semelhança das células meristemáticas dos vegetais, são células somáticas indiferenciadas e totipotentes. A atenção nesse tipo de células, nos últimos anos tem sido enorme pelas possibilidades terapêuticas, tanto no homem como em outros animais (Okamoto e Moreira Filho, 2004; Del Carlo et al., 2009). As CT podem ser de vários tipos. Contudo, elas podem ser agrupadas em células tronco embrionárias e células tronco somáticas. O emprego de células tronco embrionárias em humanos tem gerado muita controvérsia, sobretudo, no que se refere aos aspectos éticos (Del Carlo et al., 2009).

As perspectivas do emprego dessas células, tanto na solução de problemas de saúde humana, como de outros animais domésticos é enorme. Contudo, conforme destacado por Del Carlo et al. (2009), ainda não há resultados conclusivos a respeito do seu emprego especialmente em humanos. As pesquisas básicas têm sido realizadas com animais modelos. Essas pesquisas têm possibilitado testes de drogas “in vitro” em alguns animais.

### **17.3.2 Clonagem de Animais**

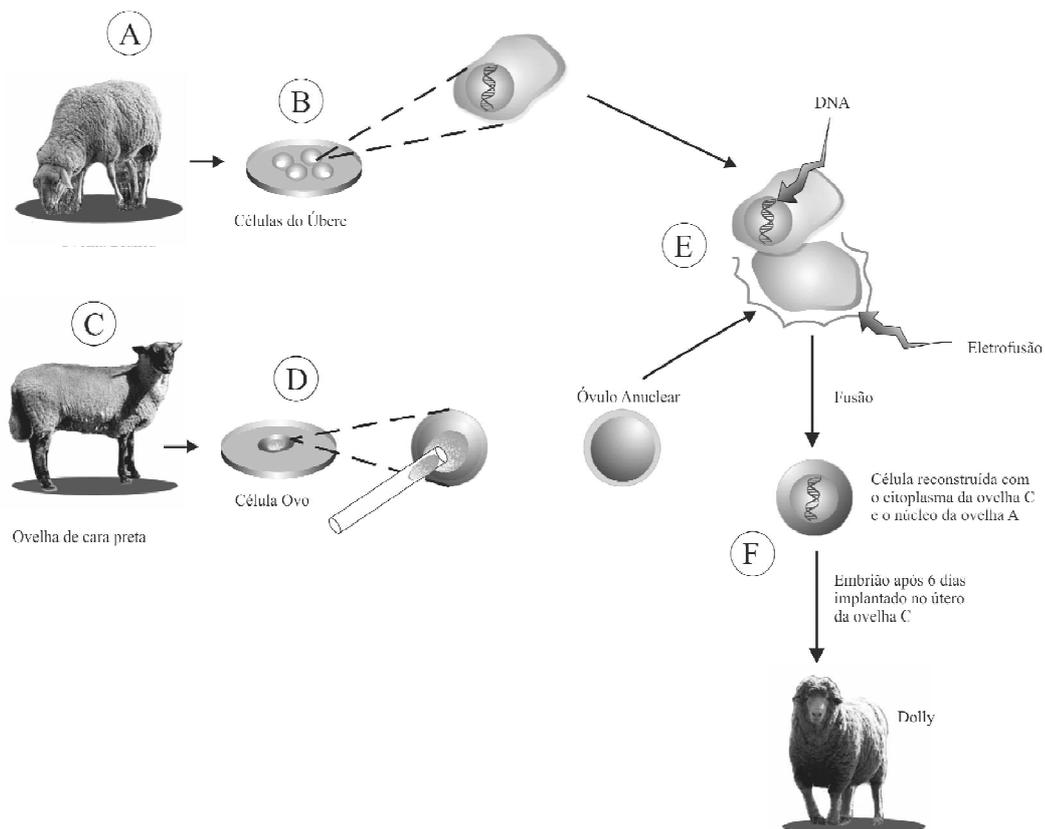
A palavra clone deriva do grego klon e foi criada para denominar indivíduos que se originam de outros por reprodução assexuada (Azevedo et al., 2009). Esse processo até recentemente era restrito aos vegetais. Em mamíferos, ocorre naturalmente, um tipo de clone, que são denominados de gêmeos idênticos ou univitelinos. Ocorre, quando o embrião no início do desenvolvimento sofre uma divisão, originando dois ou mais indivíduos geneticamente iguais.

A perspectiva de obter várias cópias de um animal surgiu a partir da obtenção da ovelha Dolly, por meio da clonagem de uma célula somática de um animal adulto (Wilmut et al., 1997). A técnica consiste em transferir o núcleo de células do tecido mamário de uma ovelha adulta, para o óvulo sem núcleo da mãe de aluguel (receptora). O material resultante foi implantado em outra fêmea. A taxa de sucesso foi pequena, obtiveram um único animal em 277 tentativas. Esse trabalho, gerou enorme discussão, com a participação intensa da mídia sobre os aspectos éticos, sobretudo, a respeito da possibilidade de se ter clones humanos. Utilizando procedimento semelhante foram obtidos clones de vários outros animais. Inclusive no Brasil, a Embrapa, produziu o primeiro clone de bovino, a bezerra Vitória. O processo foi semelhante ao de Dolly, exceto que ao invés de utilizar o núcleo de uma célula adulta, retiraram o núcleo de células embrionárias de cinco dias (Figura 17.4).

O emprego da clonagem animal tem algumas perspectivas bem interessantes (Martinez et al., 2000 e Azevedo et al., 2009). Uma delas, a mais propalada seria a multiplicação em

grande escala de animais, por exemplo, uma vaca comprovadamente de grande produção leiteira. Desse modo, aumenta a taxa de ganho genético. Teepler e Smiler (1989) mostraram teoricamente que a seleção de clones, pode propiciar ganhos que necessitariam de 15 a 17 anos se fossem utilizados os testes de progênes tradicionalmente utilizados. Entretanto, a escolha do animal para ser multiplicado não pode ter erro. Se o caráter for de baixa herdabilidade o erro ocorre e pode ser grande. Por isso, o emprego de clone para acelerar o melhoramento genético não é aconselhável (Martinez et al., 2000).

Existem outras perspectivas dos clones. Uma delas é a multiplicação de animais transgênicos. Em razão do alto custo de obtenção de um animal transgênico, obter várias cópias por meio de clones é mais vantajoso economicamente. Esse interesse, ao que parece, irá se concentrar na obtenção de animais transgênicos com interesses farmacêuticos (Azevedo et al., 2009).



**FIGURA 17.4.** Esquema do processo de obtenção da ovelha Dolly. A- Ovelha com o fenótipo desejável. B – São isoladas as células do úbere. C – Ovelha com o fenótipo não necessariamente desejável – mãe substituta. D – Da célula ovo é retirado o núcleo. E – Fusão das células, apenas o núcleo, do úbere mais célula embrionária sem o núcleo. F – Embrião em desenvolvimento com o núcleo da ovelha desejável que irá crescer e se desenvolver na mãe substituta.

### 17.3.3 Inseminação Artificial

Ao que tudo indica quem aplicou a técnica pela primeira vez foi um monge italiano, Lazáro Spallanzani, em 1779, que aplicou a técnica em um cachorro. Durante o século XX, especialmente em bovinos, ela avançou substancialmente. A aplicação generalizada da inseminação artificial (IA) tornou-se possível graças ao desenvolvimento de métodos para a armazenagem de sêmen por períodos prolongados. Esses métodos envolvem basicamente sua armazenagem sob temperatura muito baixa ( $-196^{\circ}\text{C}$ ), utilizando para isso o nitrogênio líquido. Nessa condição, o sêmen pode ser conservado por um período quase que indefinido sem perder a viabilidade. O uso da inseminação artificial tem sido considerado uma das principais causas do aumento na produção de leite em muitos países. Nos Estados Unidos, por exemplo, o rebanho leiteiro diminuiu, porém a produtividade passou de 2.500 kg de leite por lactação para 6.500 kg nos últimos quarenta anos. No Brasil, o uso da inseminação artificial é crescente. Porém, dado o tamanho do nosso rebanho, há um enorme potencial para a sua utilização. É preciso salientar, contudo, que para a adoção da IA há necessidade de melhoria das condições de manejo e da existência de mão-de-obra qualificada para essa operação.

Dentre as suas vantagens está a contribuição para acelerar o melhoramento genético. No caso da bovinocultura de leite a utilização em grande escala de touros comprovadamente superiores, maior aproveitamento de reprodutores de alta qualidade. Um touro, por exemplo, pode produzir sêmen para cobrir até 20.000 vacas por ano, enquanto, no sistema de monta natural é de, no máximo, 50. A inseminação melhora o controle de doenças transmissíveis pela monta natural, entre essas doenças estão: *Trichomonose* e *Vibroses*; possibilita também o controle reprodutivo dos animais muito mais eficiente; promove a redução dos problemas de partos dos novilhos por meio de touros com maior facilidade de parto; permite o emprego de touros testados a baixo custo, e possibilita a obtenção de descendentes de um determinado pai, mesmo após sua morte.

Com relação a limitações da inseminação artificial estão a falta de mão-de-obra especializada, que não possibilita o emprego correto da IA. Nos bovinos, a maior limitação na aplicação da IA é a baixa eficiência na identificação dos cios das vacas (Martinez et al., 2000). como já mencionado, no Brasil, o emprego da inseminação artificial é crescente, porém a sua taxa de adoção ainda é muito inferior ao de outros países. A necessidade de assistência técnica especializada, onerando o custo de produção, inviabiliza sua adoção por grande parte dos pecuaristas de menor poder aquisitivo.

### 17.3.4 Transferência de Embriões

A transferência de embriões (TE) é o processo que envolve remoção do embrião do trato reprodutivo de uma fêmea doadora e é transferido para uma ou mais fêmeas receptoras.

Essa tecnologia foi empregada pela primeira vez, no final do século XIX, em coelhos. Contudo, foi apenas em 1949 que a transferência foi avaliada no contexto dos programas de seleção de animais (Rodrigues; Rodrigues, 2009). O primeiro bezerro obtido por meio da transferência de embriões ocorreu nos Estados Unidos em 1951. Embora tivesse algum sucesso a TE ainda tinha sérias restrições. Foi só por volta de 1970 que a TE tornou-se comercial nos EUA e Canadá. No Brasil, foi utilizada com sucesso pela primeira vez em 1979.

Em princípio, essa técnica tem o mesmo objetivo da inseminação artificial, isto é, aumentar o número de descendentes de um animal com fenótipos desejáveis para vários caracteres. Apesar de se denominar transferência de embrião, o que realmente se transfere é uma massa de células não diferenciadas resultantes das primeiras divisões ocorridas logo após a formação do zigoto. Em síntese, a técnica consiste em retirar o “embrião” no início do desenvolvimento de uma vaca com excelentes qualidades e introduzi-lo em outra fêmea, que irá funcionar apenas como receptora para complementar o desenvolvimento do zigoto.

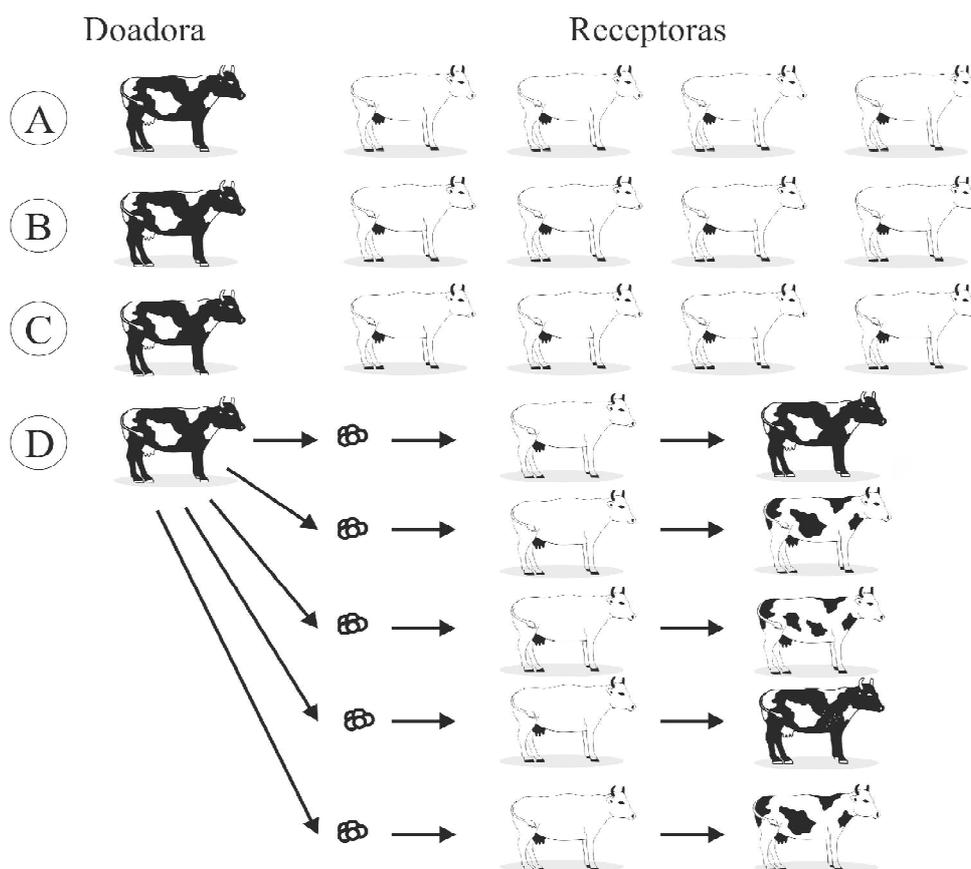
A associação entre a TE e a superovulação, isto é, o tratamento da fêmea com hormônios visando à produção de um maior número de óvulos - 8 a 10 por ovulação - irá propiciar que um animal geneticamente superior produza um enorme número de descendentes, o que não é normalmente possível (Figura 17.5). Comentando a respeito da tecnologia disponível de transferência de embriões, Rodrigues; Rodrigues (2009) salientam que os tratamentos supervulatórios apresentam resultados extremamente variáveis, independentemente do preparado hormonal utilizado. Em média, são obtidas 12 estruturas por superovulação, das quais são embriões viáveis, que após a transferência para as fêmeas receptoras resultam em cinco prenheses. Levando-se em consideração que as fêmeas podem se superovular em intervalos de dois meses, podem ser obtidas em um ano, 30 descendentes de uma doadora.

A transferência de embrião, por si só, não é um método de melhoramento genético. Ela não cria combinações novas, mas simplesmente possibilita que fêmeas consideradas geneticamente superiores possam produzir um maior número de descendentes, o que, evidentemente, pode contribuir para acelerar o processo de seleção no rebanho.

Além da possibilidade de uma fêmea de bovino, por exemplo, produzir vários descendentes por ano, a tecnologia tem outras vantagens. O criador pode adquirir descendentes de genitores superiores ainda no início do desenvolvimento, eliminando o problema do transporte de animais adultos a longa distância. Uma vantagem adicional é a redução do risco da introdução de algum patógeno.

Transferência de embriões teve maior avanço a partir da produção de embriões “in vitro”. Uma fêmea de bovino dificilmente produz mais de oito bezerros durante sua vida. Entretanto, é estimado que cada ovário, ao nascimento, possua 150 mil folículos que serão utilizados na reprodução. Portanto, o potencial de descendentes é muitas vezes superiores ao efetivamente realizado. Imaginaram então a possibilidade de aproveitamento de folículos de

fêmeas com desempenho superior em maior intensidade. Para isso, inicialmente eram coletados os ovários nos matadouros, para coleta dos ovócitos. Em 1980, no Canadá, iniciaram a coleta dos ovócitos *in vivo*. A partir desses ovócitos é realizada a fertilização “*in vitro*” (FIV). Os embriões produzidos passam por uma etapa de maturação para posterior implante nas vacas receptoras. Essa tecnologia desenvolveu muito no Brasil, que é atualmente a maior usuário mundial da técnica de produção de embriões “*in vitro*”.



**FIGURA 17.5.** Transferência de embrião e superovulação em bovinos: A) vaca doadora de alto valor genético encontra-se no cio, dia 0; B) dez dias após, é estimulada a superovulação da vaca doadora pela aplicação do hormônio estimulador folicular (FSH); C) de 2 a 4 dias após a aplicação do FSH é sincronizado o ciclo estral da doadora e receptora pela aplicação em ambos os grupos da droga prostaglandina; D) dez horas após a manifestação do cio na doadora é feita a inseminação artificial, sendo normalmente realizadas duas com intervalos de 12 horas. Sete dias após, são coletados os embriões, que serão transplantados para as vacas receptoras. Essas irão completar o período de gestação.

### 17.3.5 Sexagem de Espermatozóides e Embriões

Um outro anseio dos criadores, que tem despertado o interesse da pesquisa há longo tempo, é o desenvolvimento de uma técnica que permita o controle do sexo do descendente no momento da fertilização. É altamente desejável ter no mercado sêmen contendo apenas o cromossomo X ou Y, isto é, para a produção só de fêmea ou de macho, de acordo com a necessidade dos criadores. Uma das técnicas utilizada é a identificação dos cromossomos nos embriões, via exame citológico. Como essa operação só pode ser realizada após 14 a 15 dias da fertilização, isso reduz a probabilidade de sucesso na implantação desse embrião na fêmea receptora.

Uma das técnicas mais promissoras é a citometria de fluxo que permite a separação, por meio da composição do DNA, do gameta contendo o cromossomo X ou Y (Chastant-Maillard e Druat, 2005). Segundo os autores, essa metodologia permite 90% de acerto. Ela tem sido utilizada predominantemente em bovinos, mas o maior problema é a fertilidade do gameta pós-sexagem. Ela é altamente dependente do processamento do sêmen. Pode-se realizar também a sexagem de embriões nos programas de transferência de embriões (Deschamps et al., 2000), utilizando técnica de PCR. Segundo os autores mencionados anteriormente, a sexagem de embriões é simples e rápida. Amplifica-se regiões específicas do cromossomo Y. Os embriões são biopsiados para retirar algumas células para a sexagem e, enquanto a reação de PCR é realizada, eles podem ser mantidos em cultivo ou congelados, para, posteriormente, serem implantados nas fêmeas receptoras. A biopsia dos embriões ainda é a etapa que merece maior atenção, e exige muita habilidade na operação.

### PROBLEMAS PROPOSTOS

1. Qual o significado de biotecnologia para os dias atuais?
2. Qual o princípio envolvido na cultura de tecidos? Qual a principal dificuldade para se obter sucesso com a cultura de tecidos? Quando a cultura de tecidos funciona como um processo de clonagem e quando ela funciona como um mecanismo de geração de variabilidade que pode ser utilizada no melhoramento?
3. Qual a base genética da variação somaclonal?
4. Quais as alternativas de recombinar genes de espécies sexualmente incompatíveis?
5. Uma molécula de DNA foi digerida parcialmente com duas enzimas de restrição, a Eco RI e a Hae III, sendo produzidos os seguintes fragmentos, após determinada a sequência de cada um:

5'AGTATG  
3'TCATACTTAA

5'AGTATGAATTCCGATGCTGGCCCTGACACACAG  
3'TCATACTTAAGGCTACGACCGGGACTGTGTGTCTTAA

5'AGTATGAATTCCGATGCTGG  
3'TCATACTTAAGGCTACGACC

5'AATTCCGATGCTGGCCCTGACACACAGAATTCATAGAC3'  
GGCTACGACCGGGACTGTGTGTCTTAAGTATCTG5'

AATTCATAGAC3'  
GTATCTG5'

CCCTGACACACAGAATTCATAGAC3'  
GGGACTGTGTGTCTTAAGTATCTG5'

AATTCGATGCTGGCCCTGACACACA  
GGCTACGACCGGGACTGTGTGTTTAA

- a. Qual a sequência da molécula original?
- b. Suponha que o objetivo seja realizar a clonagem de um fragmento de DNA proveniente do corte de uma das enzimas de restrição, em um plasmídeo cortado com a mesma enzima. Qual das enzimas permite mais facilmente atingir o objetivo? Por quê?

- c. Suponha que um genoma possua  $10^8$  pares de nucleotídeos. Utilizando as duas enzimas de restrição mencionadas, qual o número de fragmentos de DNA é esperado com a digestão completa do DNA genômico em cada uma das enzimas, admitindo que as sequências por elas reconhecidas ocorram ao acaso?
6. Na sua opinião, qual tecnologia é mais específica para se utilizar no melhoramento, a variação somaclonal; a fusão de protoplastos, ou a engenharia genética? Justifique cada uma.
7. O que você acha da clonagem de animais?



# 18 MARCADORES MOLECULARES

## 18.1 INTRODUÇÃO

O termo marcador indica que sua função é, entre outras, identificar ou “etiquetar” alguma coisa. No presente contexto, os marcadores genéticos são utilizados para marcar alelos cuja expressão seja de difícil identificação. Nesse caso, pode-se selecionar o alelo de interesse de forma indireta, por meio do marcador. Adicionalmente, ele pode ser utilizado em estudo de divergência genética, com o intuito, por exemplo, de estudos evolutivos, teste de paternidade e identificação de genótipos.

A primeira idéia de se utilizar um marcador genético, visando a auxiliar na seleção de um caráter quantitativo, ocorreu em 1923 no feijão. Naquela época, foi constatado que o alelo responsável pela ausência de pigmentação escura no tegumento da semente, está ligado a alelos de alguns genes responsáveis pelo maior tamanho da semente. Consequentemente, pensou-se na possibilidade de selecionar linhagens de feijão com grãos grandes de forma indireta, isto é, selecionando-se aquelas de coloração clara, uma vez que a expressão da cor é mais facilmente avaliada do que o tamanho do grão. Portanto, o tegumento claro foi utilizado como marcador dos alelos responsáveis pelos grãos grandes.

Um ponto essencial é que o marcador seja herdável e de fácil avaliação, isto é, que o seu genótipo seja fácil e eficientemente identificado por meio do seu fenótipo, o que equivale possuir um valor de herdabilidade próximo de 1,0. Outro ponto fundamental para um marcador ser eficiente na seleção é estar intimamente ligado ao alelo que desejamos selecionar, pois assim, eles tendem a ficar juntos e sempre que um indivíduo expressar o fenótipo do marcador ele deverá também ser portador do alelo de interesse. Essas propriedades tornam os marcadores mais eficientes para a seleção indireta de alelos, cujos fenótipos são avaliados com menor precisão, do que a seleção direta, isto é, a seleção dos próprios fenótipos de interesse.

## 18.2 MARCADORES MORFOLÓGICOS

Os marcadores genéticos podem ser morfológicos e moleculares. Um marcador morfológico é um fenótipo de fácil identificação, normalmente determinado por um único

alelo e herdabilidade próxima de 1,0. Porém, como já mencionado, para ser um marcador é necessário que ele esteja intimamente ligado ao alelo de interesse. Por exemplo, no milho temos o alelo  $v_1$ , responsável por planta jovem verde-clara, que pode ser usada como marcadora do alelo  $ms_2$ , responsável pela esterilidade masculina, que é um fenótipo importante para auxiliar na produção de híbridos, mas de difícil identificação. Os alelos  $v_1$  e  $ms_2$  ocorrem no cromossomo 9, respectivamente, nos locos 63 e 64, estando, portanto, distantes em apenas 1 cM. Por essa razão, eles têm grandes chances de ficarem juntos e pode-se selecionar o alelo de interesse, que confere a esterilidade masculina, por meio da cor das plantas jovens.

A eficiência máxima do marcador ocorre quando ele se constitui no próprio alelo de interesse. Como vimos no capítulo 9, isso acontece quando um alelo afeta a expressão de mais de um caráter - pleiotropia. Um exemplo que ilustra esse fato é o alelo  $Y$ , responsável pela cor amarela da semente do milho e que também condiciona maiores teores de vitamina A. Se o melhorista está interessado em selecionar milho com alto teor dessa vitamina, sem dúvida, a melhor estratégia é selecionar, indiretamente, as sementes mais amarelas. A seleção direta, por meio da avaliação dos teores da vitamina na semente, além de exigir a análise de laboratório, tornando-a mais trabalhosa e cara, com certeza sofre mais erros de quantificação e, por isso, é menos eficiente.

A grande limitação do marcador morfológico é a sua ocorrência em número reduzido e, conseqüentemente, não ser suficiente para marcar alelos de interesse de vários genes da espécie. Isso acontece porque existem centenas a milhares de genes, para os quais existem alelos de interesse que necessitam ser marcados e, obviamente, seria necessário o mesmo número de marcadores intimamente ligados a esses alelos. Ocorre que os genes responsáveis pelos caracteres de alta herdabilidade nem sempre estão ligados àqueles que necessitam ser marcados e, portanto, não se constituem em marcadores. Assim, seriam necessários vários milhares de caracteres de alta herdabilidade para se ter a chance de uma parcela funcionar como marcador. Como sabemos, o número de caracteres de alta herdabilidade não é tão grande assim.

### 18.3 MARCADORES MOLECULARES

Os marcadores moleculares mais utilizados são aqueles à base de proteínas e os que usam o próprio DNA. Como já enfatizado, a necessidade de ser herdável continua valendo para essas novas classes de marcadores, pois os de proteínas são os produtos diretos dos alelos e os marcadores de DNA são os próprios alelos ou os seus vizinhos, isto é, as sequências de DNA situadas próximas aos alelos que queremos marcar.

#### 18.3.1 Marcadores de Proteínas - Bioquímicos

Os marcadores de proteínas são também denominados marcadores bioquímicos, e os mais usados são representados pelas isoenzimas - esterase, fosfatase, peroxidase, etc. - e

pelas proteínas de reserva de sementes. Como eles são os produtos diretos dos alelos, basta identificá-los para selecionarmos o indivíduo com o fenótipo desejado, que é produzido pelo alelo de interesse.

O procedimento para uso desses marcadores consiste basicamente na extração da proteína e no uso de reações apropriadas que a identifique. No caso de o marcador ser uma isoenzima, por exemplo, primeiramente ela deve ser isolada do indivíduo que queremos avaliar e, em seguida, colocada em contato com o seu substrato específico para ser transformado. O produto é normalmente identificado por coloração. Em diversas espécies, tanto vegetais quanto animais, esses marcadores vêm sendo empregados, especialmente por serem de menor custo. Em cevada por exemplo, tem sido utilizada a isoenzima esterase para selecionar, de forma indireta, plantas resistentes ao vírus do mosaico amarelo, decorrente do alelo dominante **Ym**.

Entretanto, à semelhança dos marcadores morfológicos, os bioquímicos possuem reduzida variabilidade, isto é, o número de marcadores em uma espécie é relativamente pequeno. Portanto, os alelos responsáveis pelas proteínas facilmente identificáveis, não ocorrem em número suficiente para marcar um grande número de alelos de interesse de vários genes. Em consequência, a utilidade dos mesmos torna-se reduzida.

### 18.3.2 Marcadores que utilizam o Próprio DNA

Os marcadores de DNA começaram a ser utilizados na década de 1980 e já foram desenvolvidos mais de uma dezena de procedimentos. A maior vantagem do DNA é a grande variabilidade que se observa entre os indivíduos de uma espécie, o que equivale dizer que utilizando o DNA consegue-se um número de marcadores ou “etiquetas” suficientes para marcar todos os alelos de todos os genes da espécie. A desvantagem dos marcadores de DNA é o fato de que as técnicas laboratoriais são mais caras quando comparadas com os marcadores bioquímicos. Evidentemente, os marcadores morfológicos são os ideais em relação a esse aspecto, pois sendo um fenótipo da planta, não têm nenhum custo a não ser o de obtenção da planta.

Existem algumas estimativas em humanos mostrando, a partir de duas moléculas homólogas de DNA, que um em cada 100 nucleotídeos deve ser diferente - polimórfico. Infere-se facilmente então, a magnitude do polimorfismo na espécie humana. Isso porque, como já mencionado no capítulo 4, nessa espécie há cerca de  $2,9 \times 10^9$  pares de nucleotídeos em seu genoma. Como entre cada 100 um deve ser polimórfico, espera-se então, cerca de  $2,9 \times 10^7$  pares de nucleotídeos diferentes, quando se comparam dois indivíduos tomados ao acaso na população. As plantas são mais tolerantes à variação ambiental do que os animais, pois têm de se adaptarem às maiores amplitudes de variação do ambiente, sem se movimentarem, o que indica que elas devem possuir mais variação em nível de DNA do que os animais. Os marcadores de DNA têm-se mostrado altamente

eficientes para identificar variabilidade em plantas e, em milho, tem sido constatado polimorfismo de nucleotídeos à cada 70 pares de bases do genoma, quando se comparam genótipos não aparentados.

Em razão da maior variabilidade dos marcadores de DNA e, portanto, da maior utilidade deles como marcadores de alelos de interesse, será dada maior ênfase aos mesmos. No entanto, em razão da existência de mais de uma dezena de procedimentos alternativos, serão descritos com mais detalhes apenas os mais comuns. O primeiro deles é o **RFLP**, que corresponde à expressão em inglês **R**estriction **F**ragment **L**ength **P**olymorphism e significa polimorfismo de comprimentos de fragmentos de restrição. O outro é a **PCR**, também proveniente de expressão em inglês: **P**olymerase **C**hain **R**eaction, que significa reação de polimerização em cadeia. Também será comentado sobre o **AFLP**, da expressão **A**mplified **F**ragment **L**ength **P**olymorphism, que significa polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados e é, simplificadamente, o resultado da associação do RFLP e PCR com algumas modificações. Outro marcador muito popular é o microsatélite, também referido como **SSR**, da expressão **S**imple **S**equence **R**epeat e que se baseia no DNA altamente repetitivo. Um breve comentário também será realizado sobre o **SNP**, da expressão **S**ingle **N**ucleotide **P**olymorphism. A pronúncia do nome desse marcador é **snip** e ele corresponde ao polimorfismo mononucleotídeo.

### 18.3.2.1 RFLP

A técnica RFLP foi uma das mais usadas, em razão da sua grande eficiência e também porque já é conhecida há mais tempo. Entretanto, dada a sua complexidade e impossibilidade de automação ela vem sendo deixada de lado, embora seja importante conhecê-la, porque há muita informação na literatura com esse tipo de marcador, além de parte de seu procedimento ainda ser largamente utilizado em outros marcadores como o AFLP e o SNP.

O RFLP se baseia essencialmente no corte do DNA genômico por uma ou mais enzimas de restrição, gerando milhares de fragmentos. Em seguida, os fragmentos são separados por meio da eletroforese, com base no tamanho dos mesmos. Alguns desses fragmentos são, em seguida, identificados por meio de uma sonda que possui uma sequência de bases complementares ao fragmento, como visto no capítulo 3.

Para entendermos a aplicação da técnica RFLP, vamos considerar que se deseja verificar o polimorfismo de dois indivíduos *A* e *B*, de qualquer espécie, tomados ao acaso na população. Para isso, inicialmente, deve-se extrair o DNA dos dois indivíduos - DNA genômico. Essa é uma operação relativamente simples e na literatura existem protocolos de extração de DNA para todas as partes dos organismos de um grande número de espécies.

Em seguida, os DNA dos dois organismos são tratados com uma mesma enzima de restrição, por exemplo, a *Eco* RI, que corta o DNA na seguinte sequência: 5' GAATTC 3' (Tabela 17.1).

Como em qualquer espécie há bilhões de nucleotídeos, é esperado que a sequência mencionada ocorra inúmeras vezes, ou seja, os DNA dos indivíduos *A* e *B*, serão cortados em alguns milhares de fragmentos. Ocorre que alguns fragmentos de DNA dos organismos podem diferir em tamanho, pelas seguintes razões: a) Mutação no sítio de restrição em um dos indivíduos, impedindo o corte do DNA nesse ponto; b) Ocorrência de aberrações como deleção ou duplicação na região entre dois sítios sucessivos de corte da enzima, alterando o seu tamanho. Por exemplo, imagine dois fragmentos homólogos de DNA dos dois organismos com 3000 pares de base (pb). Imaginemos ainda que esse fragmento seja cortado em suas extremidades pela enzima *Eco* RI, nos dois organismos e que, em um deles exista adicionalmente mais um sítio de corte, dividindo o fragmento em dois, sendo um com 500 pb - fragmento 2 - e o outro com 2500 pb - fragmento 3 (Figura 18.1A). Em consequência, será observado um polimorfismo de fragmentos nos dois indivíduos, isto é, a presença de fragmentos de tamanhos diferentes. Esse polimorfismo ocorreu porque em um dos indivíduos, provavelmente ocorreu uma mutação no sítio que seria reconhecido pela enzima *Eco* RI, na posição intermediária do fragmento considerado, impedindo sua clivagem.

Para se observar o polimorfismo de fragmentos resultantes dos cortes nos pontos ↓, eles são separados em eletroforese (Figura 18.1.B). O indivíduo *A* terá três fragmentos e o indivíduo *B*, quatro fragmentos. Se os DNA dos indivíduos forem hibridizados com outro DNA complementar (sonda), marcado radioativamente, no local (■), a autorradiografia (“fotografia”) dos produtos da eletroforese mostrará somente os fragmentos marcados com a sonda, isto é, o fragmento 2+3 do indivíduo *A*, com 3000 pb e apenas o fragmento 2 do indivíduo *B*, com 500 pb. Observe que somente esse último fragmento é o complementar à sonda.

Para realizar a hibridização da sonda, é necessário transferir os fragmentos de DNA genômico, separados pela eletroforese e que estão no gel, para uma membrana de nylon ou de nitrocelulose. Fragmentos previamente desnaturados com uma solução alcalina de hidróxido de sódio são transferidos para uma membrana de nylon. Para se realizar essa transferência, coloca-se o gel sobre duas folhas de papel de filtro e, posteriormente, coloca-se a membrana de nylon e sobre ela uma pilha de papel toalha de cerca de 40cm, pressionados por um peso de aproximadamente 1kg, durante uma noite (Figura 18.2). Essa técnica é chamada de Southern blotting e o que ocorre é a absorção, por capilaridade, da solução onde se encontra o gel, pelo papel toalha. Juntamente com a solução, os fragmentos de DNA também são arrastados e se fixam na membrana de nylon. A membrana então imobiliza os fragmentos de cadeia simples nas posições em que eles foram separados pela eletroforese.

A membrana de nylon, agora com os fragmentos de DNA, é colocada em contato com a sonda radioativa de DNA que irá se parear apenas com o fragmento que lhe é complementar; no caso, o fragmento 2, da Figura 18.1.A, presente nos dois indivíduos e que corresponde

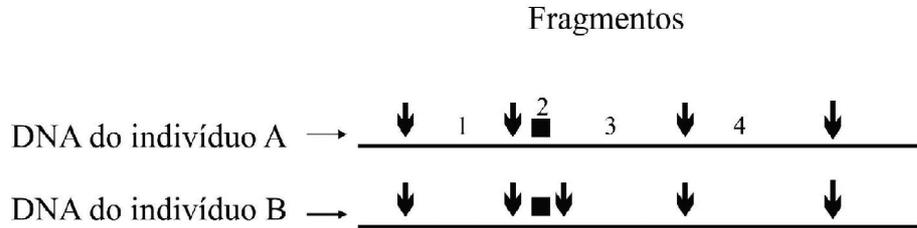
ao fragmento de 500 pb. A membrana de nylon é, em seguida, coberta com um filme fotográfico próprio - filme de raio X -, ocorrendo a autorradiografia. Isso significa que a sonda, por ser radioativa, emite radiações que sensibilizam o filme, que ao ser revelado, mostra o local onde ela ocorria e também o fragmento de DNA que lhe é complementar. A sonda radioativa mais amplamente usada é um fragmento de DNA sintetizado, utilizando-se uma das quatro bases nitrogenadas com o fósforo radioativo -  $^{32}\text{P}$ . O uso desse elemento radioativo constitui-se em uma dificuldade nos países onde ele necessita ser importado, como é o caso do Brasil. Isso acontece porque a meia vida do referido elemento corresponde a cerca de 15 dias e o tempo gasto com as complicações de importação ocasionam, geralmente, a inviabilidade do mesmo.

Para evitar a dificuldade de se trabalhar com o  $^{32}\text{P}$ , outra opção é realizar a marcação da sonda a frio. Uma opção é a síntese da sonda de DNA com o trifosfato de desoxiuridina (dUTP), juntamente com dTTP, dATP, dCTP e dGTP. O uso de dUTP na sonda é porque ele se une com o esteróide digoxigenina. Esse esteróide, por sua vez, é reconhecido por um anticorpo a anti-digoxigenina, que é, posteriormente, unido à enzima fosfatase alcalina. Essa enzima, estando presa à sonda, quando em contato com uma substância chamada de AMPPD, há emissão de luz captada pelo filme de raio X, identificando a sua posição e também do fragmento complementar de DNA genômico, na membrana de nitrocelulose ou nylon.

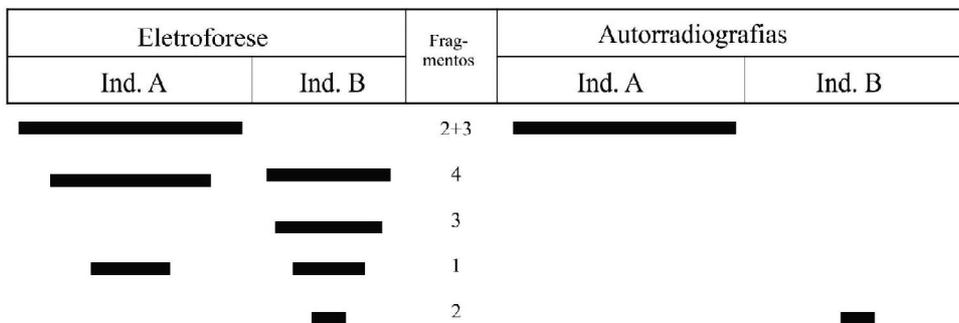
A sonda, também chamada de DNA prova, é, em geral, um fragmento genômico clonado - biblioteca genômica - ou um cDNA - biblioteca de cDNA -. A biblioteca genômica consiste em milhares de fragmentos de DNA genômico de uma espécie, cada um clonado em um plasmídeo por meio de uma bactéria, geralmente a *Escherichia coli*. Já, a biblioteca de cDNA é semelhante à genômica, só que os fragmentos de DNA não são de origem aleatória do genoma, mas derivados de mRNAs de diferentes genes. Daí, o termo cDNA que corresponde ao DNA complementar ao mRNA. O DNA prova pode ser da espécie a ser analisada - homóloga - ou de outra espécie relacionada - heteróloga. Este último, no entanto, é mais difícil de ser usado, em razão da complementariedade menos perfeita, ocasionando menor estabilidade do DNA híbrido. O ideal, é a sonda que identifica fragmentos de cópias simples, pois apresenta herança monogênica.

Como visto, a técnica RFLP pode ser resumida basicamente nos seguintes passos: 1) Isolamento do DNA de cada indivíduo; 2) Corte do DNA de cada indivíduo com uma ou mais enzimas de restrição (Tabela 17.1); 3) Separação dos fragmentos de DNA por meio de eletroforese; 4) Transferência dos fragmentos de DNA para uma membrana de nylon ou de nitrocelulose; 5) Hibridização de um ou mais fragmentos desnaturados de DNA com uma sonda, que corresponde a um fragmento de DNA de cadeia simples complementar; 6) Fotografia do fragmento identificado pela sonda.

A: Dois DNAs cortados pela enzima de restrição (↓)

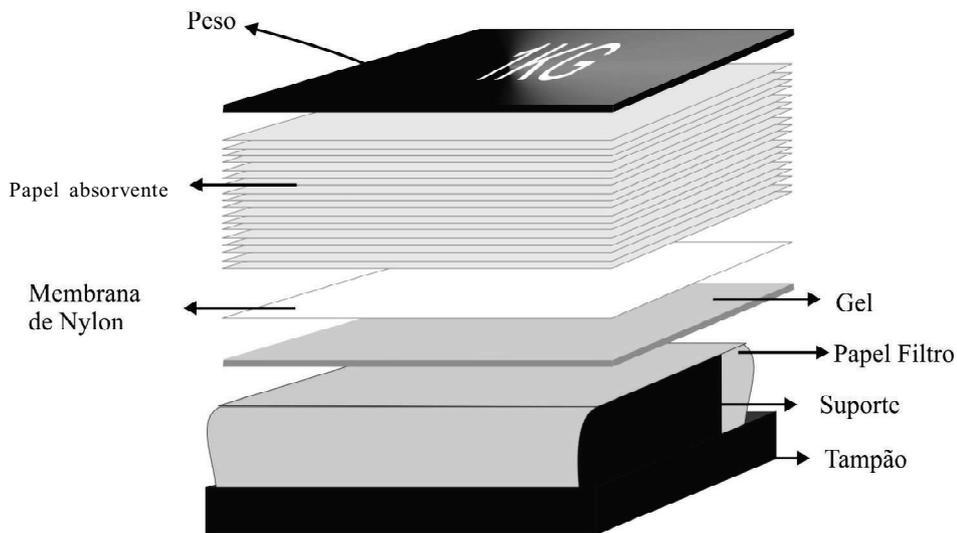


B: Eletroforese e identificação dos fragmentos de DNA



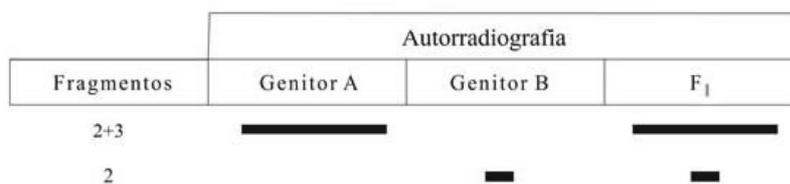
**FIGURA 18.1.** Na letra A estão representados os DNA de dois indivíduos homocigóticos e os locais da molécula que são cortados pela enzima de restrição (↓), resultando na produção de três fragmentos a partir do DNA do indivíduo A e quatro a partir do indivíduo B. Observe que apenas o fragmento de 3000 pb do indivíduo A (fragmento 2 + 3) é reconhecido pela sonda (■), enquanto somente o de 500 pb (fragmento 2) é o reconhecido no indivíduo B. Na letra B, observa-se a separação dos fragmentos de DNA por meio da eletroforese, com base no tamanho do fragmento, onde aqueles de menor tamanho migram mais rápido. No entanto, apenas um fragmento reconhecido pela sonda marcada pode ser visualizado em cada indivíduo, sendo o fragmento maior do indivíduo A e o menor do B.

Como já foi comentado, o marcador necessita ser herdável. No caso do RFLP, se os dois indivíduos considerados na Figura 18.1.A forem cruzados, será obtida a geração F<sub>1</sub>. Quando se analisam os genitores e a geração F<sub>1</sub> por meio de RFLP, observa-se no indivíduo F<sub>1</sub> a herança dos dois tipos de bandas, para as quais os genitores diferem, caracterizando codominância (Figura 18.3).



**FIGURA 18.2.** Técnica Southern blotting, que consiste da transferência por capilaridade dos fragmentos de DNA que se encontram no gel, para a membrana de nylon. A força capilar é produzida pela pilha de papel toalha que absorve a solução embebida pelo papel de filtro.

Admitindo-se que o fragmento de DNA identificado pela sonda esteja intimamente ligado a um alelo de interesse, pode-se selecionar esse alelo por meio desse fragmento. Isso equivale dizer que em uma população segregante, toda planta que possuir o fragmento de DNA identificado pela sonda deverá ter também o alelo de interesse, porque ambos estão intimamente ligados e tendem a ficar juntos. É, portanto, nessa condição, que o RFLP funciona como um marcador ou uma “etiqueta” de um alelo de interesse.



**FIGURA 18.3.** Herança de um caráter de RFLP, representado por um loco identificado pela sonda complementar ao fragmento 2 da Figura 18.1 e que se expressa como dois fenótipos alternativos, isto é, um fragmento grande de DNA (fragmento 2+3) presente no genitor A e um fragmento pequeno, representado apenas pelo fragmento 2, presente no genitor B. Note a ocorrência dos dois fenótipos no indivíduo F<sub>1</sub>, caracterizando a codominância.

Outra propriedade importante dos marcadores é apresentar amplo polimorfismo. Como visto, o RFLP consiste basicamente no uso de uma enzima de restrição que corta o DNA em sítios específicos, produzindo milhares de fragmentos. Entre esses, algumas dezenas ou mesmo

centenas podem ser identificados, pois existem centenas a milhares de sondas disponíveis para diversas espécies. Adicionalmente, são conhecidas mais de 500 tipos de enzimas de restrição. Assim, existe a possibilidade de identificar um número praticamente infinito de fragmentos de DNA, havendo, portanto, a chance de ocorrer pelo menos um fragmento próximo de todos os alelos de qualquer espécie. Daí o grande potencial do RFLP como um marcador.

### 18.3.2.2 PCR

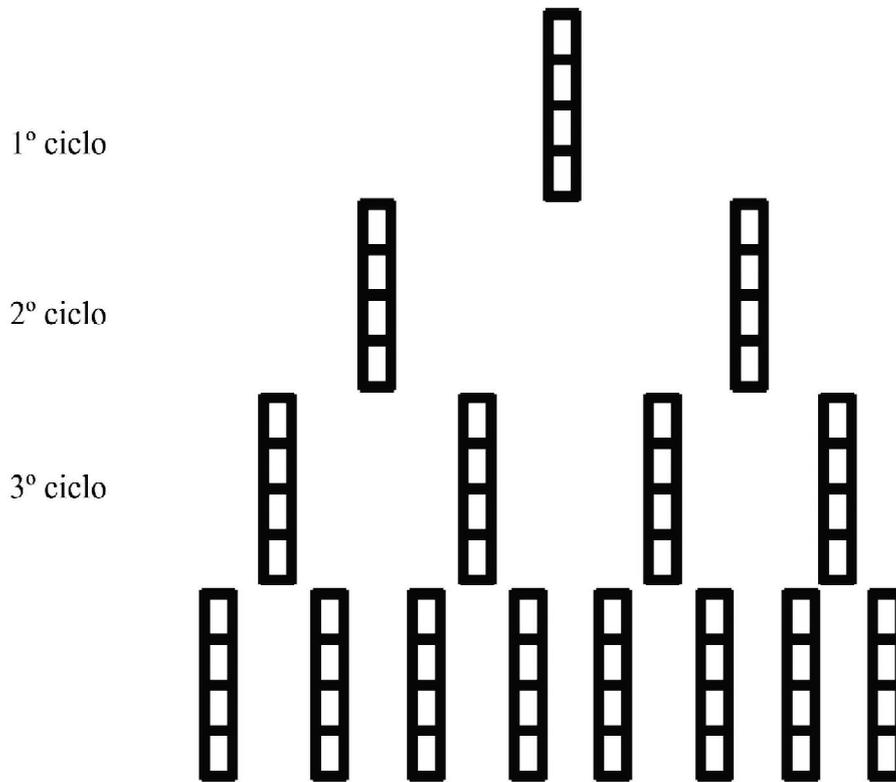
No final da década de 80 surgiu a técnica PCR, que também usa o DNA como marcador. No entanto, difere do RFLP, porque ao invés de marcar um segmento de DNA genômico com uma sonda, o que ocorre é a replicação de certos segmentos específicos do DNA genômico, *in vitro*. Isso foi possível, porque como foi visto no capítulo 3, a DNA polimerase, a enzima que sintetiza o DNA, só funciona quando um pequeno segmento da molécula a ser sintetizada já existe. Esse segmento é chamado de **primer**. Assim, quando se conhece a sequência de bases de um alelo de interesse, pode-se usar as sequências complementares das extremidades 3' de um segmento desse alelo, geralmente com 20 a 25 nucleotídeos, como primers e promover a síntese do mesmo, artificialmente, por vários ciclos ( $n$ ) sucessivos, gerando um grande número ( $2^n$ ) de moléculas idênticas (Figura 18.4)

Porém, no caso da PCR temos de considerar, como já mencionado, que nem todo o DNA de um organismo é replicado, e sim, apenas as sequências cujas extremidades foram identificadas pelo par de primers. Portanto, nas moléculas de DNA de um indivíduo, as quais são geralmente muito longas, apenas um ou poucos segmentos serão replicados. Para se conseguir esse resultado é necessário preparar uma reação que consiste basicamente em misturar os seguintes componentes: 1) DNA do indivíduo de onde queremos amplificar um fragmento; 2) um par de primers; 3) os quatro desoxirribonucleotídeos 5' trifosfatos (dNTPs); 4) um tampão de reação no qual deve conter cloreto de magnésio. A replicação do fragmento de DNA ocorrerá em um equipamento chamado de termociclador, que fornece as temperaturas de desnaturação do DNA molde (91 a 94°C), de anelamento do primer (50 a 62°C) e de extensão, de 72°C, cada qual durante um certo tempo. Esse conjunto de temperaturas e respectivos tempos constituem um ciclo.

No caso de utilizarmos o par de primers que reconhecem um alelo de interesse e procedermos a sua replicação por meio da PCR, usando 40 ciclos, o número de moléculas do referido alelo será cerca de  $2^{40}$ , que equivalem a  $1,099512 \times 10^{12}$  cópias e correspondem ao número de vezes que ele estará mais concentrado do que o restante do DNA genômico, que não foi replicado. Usando a eletroforese, todos os fragmentos de DNA de diferentes tamanhos serão separados, tanto aquele que foi amplificado quanto os que não foram. Como a concentração de DNA utilizada em cada reação de PCR é muito baixa, cerca de  $2 \times 10^{-8}$ g,

somente o alelo que foi amplificado na reação, é que pode ser visualizado como uma banda no gel, após tratado com brometo de etídeo e iluminado por luz ultravioleta. Como ele tem a propriedade de apresentar uma coloração alaranjada ao ser iluminado por luz ultravioleta, ele funciona então como um “corante” de DNA. Vale mencionar que o brometo de etídio é um agente mutagênico capaz de causar adição ou deleção de nucleotídeos – capítulo 3 -, porque a sua molécula insere-se dentro da molécula de DNA. Assim, ele deve ser manuseado com cuidado, evitando-se que entre em contato com o corpo, pois é um agente cancerígeno. Há outras substâncias que também podem ser usadas como corante de DNA em gel de agarose.

### Replicação do DNA in Vitro



**FIGURA 18.4.** Na replicação do DNA in vitro cada molécula produz duas moléculas filhas idênticas após cada ciclo. Observe que após três ciclos sucessivos, uma única molécula resultou na síntese de oito moléculas idênticas ( $2^3 = 8$ ).

A síntese de DNA *in vitro* em alta velocidade - 40 ciclos durante 1,0 a 4,0 horas -, só foi possível graças à descoberta de uma DNA polimerase especial, que resiste à temperatura de 95°C, necessária para a desnaturação do DNA durante o processo de replicação. A enzima mais usada é a Taq DNA polimerase, extraída da arqueobactéria *Thermus aquaticus*, que vive em águas naturais quentes.

A principal desvantagem da técnica PCR é o fato de ela requerer o isolamento e o sequenciamento de um dado alelo, para se obter o par de primers, tornando a técnica onerosa. Entretanto, com a disponibilidade de grande número de sequências de alelos em bancos públicos de DNA, essa dificuldade vem sendo eliminada.

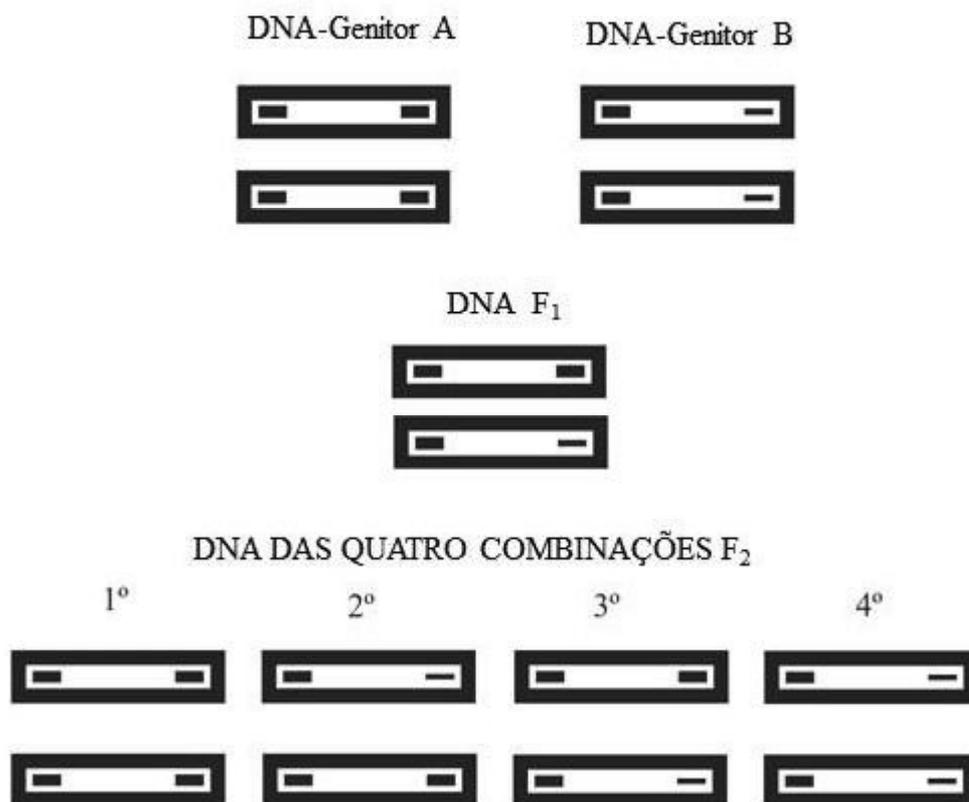
Uma das primeiras modificações da PCR surgiu em 1990, pela utilização de primers de sequência aleatória, dispensando-se assim a necessidade de informação de sequência para a síntese do primer. O procedimento passou a ser chamado de **RAPD**, do inglês **R**andom **A**mplified **P**olymorphic **D**N.A, que significa DNA polimórfico amplificado e aleatório.

Milhares de primers aleatórios já são comercializados. Os primers usados em RAPD são na grande maioria de 10 nucleotídeos e os que têm produzido polimorfismo em plantas possuem de 50% a 80% de guanina mais citosina. Essa amplitude de composição de bases implica na possibilidade de se obterem mais de 600.000 tipos de primers. Daí surge o grande potencial do RAPD em identificar variabilidade genética, pois os resultados experimentais têm demonstrado que no mínimo 10% dos primers aleatórios identificam polimorfismo nas espécies cultivadas, dependendo, evidentemente, do nível de variabilidade genética de cada espécie. Além disso, tem sido constatado que o número médio de bandas ou marcadores polimórficos por primer é três. Portanto, esses resultados experimentais evidenciam que há a possibilidade de se obterem no mínimo 180.000 marcadores polimórficos, nas espécies cultivadas com menor variabilidade genética, utilizando-se apenas um primer por reação RAPD. Adicionalmente, podem-se também utilizar pares de primers em cada reação RAPD. Assim, os 600.000 primers possíveis podem ser combinados dois a dois, em cada reação e tem-se a partir daí uma quantidade enorme de combinações de primers capazes de identificar novos polimorfismos na espécie. Constata-se assim, que o potencial do RAPD é praticamente ilimitado para identificar polimorfismo genético.

Tanto a PCR quanto o RAPD são marcadores cujas bandas apresentam herança dominante. Esse tipo de “interação alélica” pode ser compreendida considerando-se a herança de um fragmento de DNA a partir do cruzamento de dois genitores diplóides e contrastantes (Figura 18.5).

Em relação ao RAPD, é necessário mencionar que, em razão de se usar primers de apenas 10 bases, os produtos do RAPD nem sempre são tão confiáveis quanto os da PCR. Isso significa que algumas bandas de RAPD, especialmente aquelas mais fracas, podem não se repetir quando se repete uma reação. Isso ocorre principalmente quando se mudam os

reagentes e o termociclador. Outra razão pela menor estabilidade das bandas de RAPD é porque as condições de reação são menos drásticas em relação à PCR, isto é, necessita-se utilizar uma menor temperatura de anelamento do primer e maior concentração de cloreto de magnésio. Entretanto, é também necessário frisar que as bandas fortes são mais estáveis, especialmente repetindo-se as mesmas condições de reação.

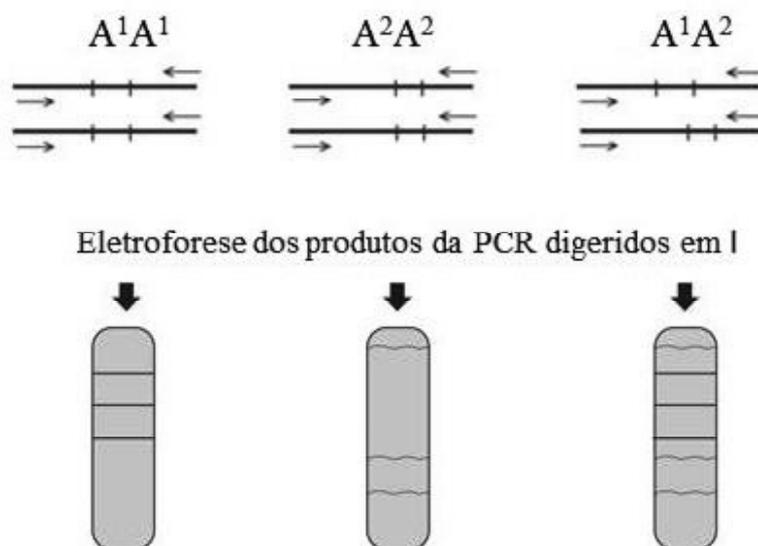


**FIGURA 18.5.** Cada retângulo representa uma molécula de DNA. O sinal — corresponde ao sítio reconhecido pelo primer nas posições 3' das duas cadeias complementares de DNA, que servirão de moldes para sua replicação durante as reações de PCR ou RAPD. O sinal — indica um sítio não reconhecido pelo primer em razão da mutação por exemplo. Em consequência, quando uma molécula de DNA possui o sítio reconhecido pelo primer em apenas uma das extremidades 3', é fácil perceber que somente essa cadeia de DNA poderia ser replicada. Entretanto, a cadeia complementar, portadora do sítio mutante, não consegue ser replicada e impede que a molécula de DNA completa também seja replicada. Assim, as duas moléculas de DNA do genitor A e do indivíduo F<sub>2</sub> da primeira combinação serão amplificadas. A replicação também ocorre a partir de apenas uma molécula de DNA dos indivíduos F<sub>1</sub> e dos indivíduos F<sub>2</sub> das combinações dois e três. Já os DNA do genitor B e dos indivíduos F<sub>2</sub> da quarta combinação não serão amplificados. Será então observada banda no gel, relativa ao genitor A, à geração F<sub>1</sub> e em três das quatro combinações F<sub>2</sub>, caracterizando a dominância completa.

Quando uma banda RAPD é identificada próxima, ou mesmo dentro de um alelo de interesse, isto é, um marcador do alelo, há possibilidade de transformar essa banda em uma PCR, tornando-a mais estável. Nesse caso, o procedimento consiste em isolar do gel o DNA da banda RAPD de interesse, sequenciá-lo e, a partir da sequência, desenhar um par de primers com cerca de 20 bases. Esse novo marcador é denominado de **SCAR** da expressão **Sequence Characterized Amplified Region**, que significa região amplificada de sequência caracterizada. Um exemplo de SCAR é o que amplifica um segmento do alelo *Co-4<sup>2</sup>* que confere resistência do feijão a várias raças do fungo que causa a antracnose. A banda desse SCAR possui 950 pares de bases e é amplificada pelo par de primers 5'**CAC GGA CCG AAT AAG CCA CCAACA** 3' e 5'**CAC GGA CCG AGG ATA CAG TGAAAG** 3'. Note que a sequência em negrito comum no par de primers corresponde ao primer RAPD utilizado na identificação original da banda. As sequências adicionais foram obtidas após o sequenciamento da banda.

Outra variação da PCR é o marcador CAPS, da expressão **Cleaved Amplified Polymorphic Sequence** ou sequência amplificada e polimórfica após a clivagem. Esse procedimento é empregado quando um par de primer amplifica um fragmento de DNA em todos os indivíduos, portanto, não gerando polimorfismo. Porém, quando se trata o produto da reação com uma enzima de restrição, em alguns indivíduos nota-se a sua divisão em um ou mais locais, decorrente da presença de um ou mais sítios de restrição. Em consequência, é possível detectar polimorfismo, isto é, diferenciar os indivíduos que têm diferentes números de sítios de restrição dentro do fragmento de DNA (Figura 18.6), ou ainda, ocorrer sítio de restrição em um indivíduo e não ocorrer em outro. A ocorrência do sítio de restrição é decorrente da mutação por substituição de nucleotídeo, ou mesmo adição ou deleção. O CAPS é também denominado de PCR/RFLP.

## Origem do CAPS



**FIGURA 18.6.** Resultados idênticos da PCR em três genótipos são identificados pelo fragmento gerado pelo par de primers ( $\leftarrow\rightarrow$ ). Uma enzima de restrição corta o fragmento de DNA em dois locais no genótipo  $A^1A^1$ , gerando três novos fragmentos e em dois locais diferentes no genótipo  $A^2A^2$ , gerando mais três novos fragmentos. Os seis fragmentos observados no heterozigoto caracteriza a codominância do CAPS.

Se o marcador for importante para identificar um alelo de interesse, o fragmento de DNA original pode ser sequenciado e identificado o sítio de restrição, para o qual poderá ser confeccionado novo par de primers que identificará o polimorfismo de interesse, transformando o CAPS em uma PCR e dispensando o uso da enzima de restrição. As vantagens do CAPS são: a. Codominante; b. confiável; c. identifica polimorfismo em PCR monomórficos.

### 18.3.2.3 AFLP

Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) corresponde ao polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados e é uma técnica que utiliza as enzimas de restrição citadas na Tabela 17.1, para clivar o DNA de um indivíduo. Como a maioria das enzimas de restrição produz extremidades coesivas, o passo seguinte consiste em ligar um fragmento de DNA com cerca de 25 pares de bases, chamado de **adaptador**, com sequência conhecida em cada extremidade coesiva. Em uma terceira etapa são utilizados primers complementares aos adaptadores e procede-se a uma reação de PCR.

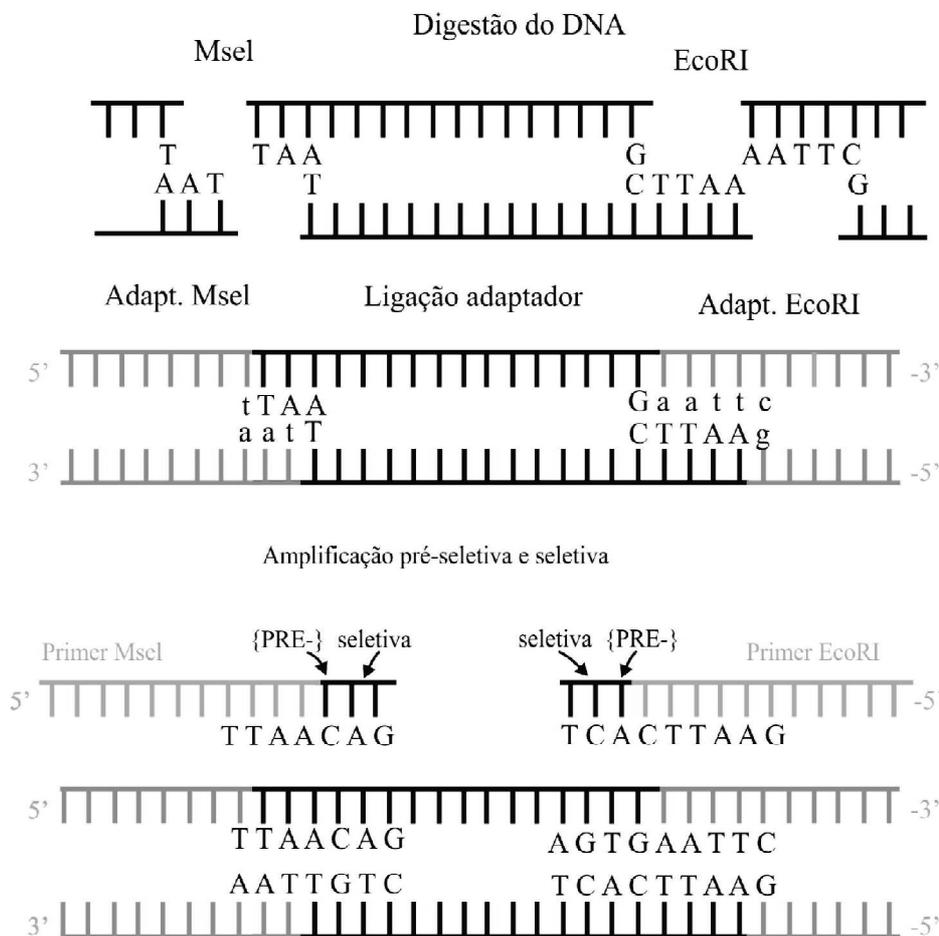
Surge a questão de como selecionar entre os milhares de fragmentos produzidos pela clivagem do DNA por meio da enzima de restrição, para se conseguir um número de

bandas viável de ser identificado no gel de eletroforese, que é em torno de 50. Para isso normalmente cliva-se o DNA, em primeiro lugar, com uma enzima que reconhece sítios de seis bases como a Eco RI 5' G<sup>↓</sup> AATTC 3', onde a seta indica o local de clivagem. Essa enzima corta o DNA em fragmentos grandes, os quais não são facilmente separáveis na eletroforese, porque são, em geral, muito longos. Em seguida, esses fragmentos são clivados com uma segunda enzima que reconhece sítios de quatro bases, como Hpa II - 5' C<sup>↓</sup> CGG 3'. Conclui-se, assim, que serão produzidas três classes de fragmentos: 1) Os grandes são produzidos pela clivagem somente com a enzima Eco RI; 2) os médios são produzidos pela clivagem de um lado com a enzima Eco RI e do outro lado com a enzima Hpa II; 3) e os pequenos são provenientes do corte somente com a enzima Hpa II. Somente os fragmentos de tamanho médio são compatíveis para serem separados por meio da eletroforese. Entretanto, o número desses fragmentos é ainda muito grande para serem discriminados em um único gel. Assim, procede-se à seleção de uma pequena parcela dos mesmos em duas reações sucessivas de PCR.

A seleção é realizada por meio do emprego de **primers degenerados**, isto é, um primer complementar às extremidades do fragmento de tamanho intermediário, porém, que possui uma base da extremidade 3' aleatória. A primeira PCR é chamada de **pré-seletiva**. Assim, ao invés do primer possuir em 3' exatamente a base complementar ao fragmento intermediário, ele possui, ao acaso, uma das quatro bases que participam do DNA. Conseqüentemente, esse primer degenerado em uma base irá se parear apenas com um dos quatro fragmentos de tamanho intermediário que possuir a base complementar. Por exemplo, suponha que o primer tenha na extremidade 3' a base **A**. Ele irá se parear somente com os fragmentos intermediários que tiverem a base correspondente **T**. Os demais fragmentos de tamanhos intermediários, que tiverem na posição correspondente à base 3' do primer a **A**, ou **C**, ou **G**, não serão reconhecidos e, conseqüentemente, não serão replicados. Portanto, são selecionados apenas 1/4 dos fragmentos por um dos membros do par de primer e 1/4 pelo outro membro, totalizando uma seleção de 1/16, isto é, apenas 1 em 16 fragmentos será amplificado (Figura 18.7).

Os produtos dessa primeira PCR são utilizados numa segunda PCR, a **seletiva**, onde são utilizados primers degenerados em três bases na extremidade 3', essas três bases aleatórias vão reconhecer somente  $(1/64)^2$ , ou seja, 1/4096 fragmentos de comprimentos médios que serão amplificados. O valor 1/64 corresponde a  $(1/4)^3$ , que é a probabilidade de três bases aleatórias da extremidade 3' do primer reconhecer uma das cadeias do DNA exatamente complementar. Como o DNA tem duas cadeias que servem de molde para serem replicadas por meio das duas PCRs, temos o produto  $(1/64) \times (1/64)$  ou  $(1/64)^2$  que equivalem 1/4096 (Figura 18.7). Os produtos da PCR seletiva são então separados em gel de poliacrilamida e os melhores resultados são produzidos em gel de poliacrilamida desnaturante.

Para visualizar as bandas no gel, marca-se a extremidade 5' do primer, que reconhece a extremidade do fragmento cortado com a enzima de seis bases com um nucleotídeo radioativo como o <sup>32</sup>P seguido da autorradiografia do gel com um filme de raio X. Um método alternativo é a marcação a frio e um dos procedimentos mais usados é a coloração com nitrato de prata. Há também a possibilidade de se utilizar nucleotídeos marcados com fluorocromos e identificar os fragmentos de DNA com maior poder de resolução. Nesse caso, normalmente utilizam-se os sequenciadores de DNA que já possuem o dispositivo para a leitura dos comprimentos de ondas emitidos pelos fluorocromos.



**FIGURA 18.7.** Ilustração da digestão do DNA por meio de duas enzimas de restrição, uma de corte raro e outra de corte frequente, gerando um fragmento de tamanho intermediário com as extremidades coesivas de cada enzima. Nota-se em seguida a ligação dos dois adaptadores com nucleotídeos representados em minúscula, que são os sítios do par de primers. Faz-se em seguida a PCR pré-seletiva com os primers degenerados em uma base em 3' e, o produto é utilizado na PCR seletiva, com os primers degenerados em três bases em 3'. O produto dessa segunda PCR é o que será observado após a eletroforese.

Como a operação final consiste na PCR, o AFLP é um marcador dominante. É importante enfatizar que a grande vantagem desse marcador é a confiabilidade dos resultados produzidos pela PCR e pelas enzimas de restrição, e o enorme potencial de identificar variabilidade genética. Esse potencial advém das várias combinações possíveis de pares de enzimas de restrição, cada uma com uma enzima de corte raro e outra de corte frequente e para cada par de enzimas pode-se usar 64 pares de primers degenerados em três nucleotídeos em 3'.

#### 18.3.2.4 MICROSSATÉLITE OU SSR (Simple Sequence Repeat)

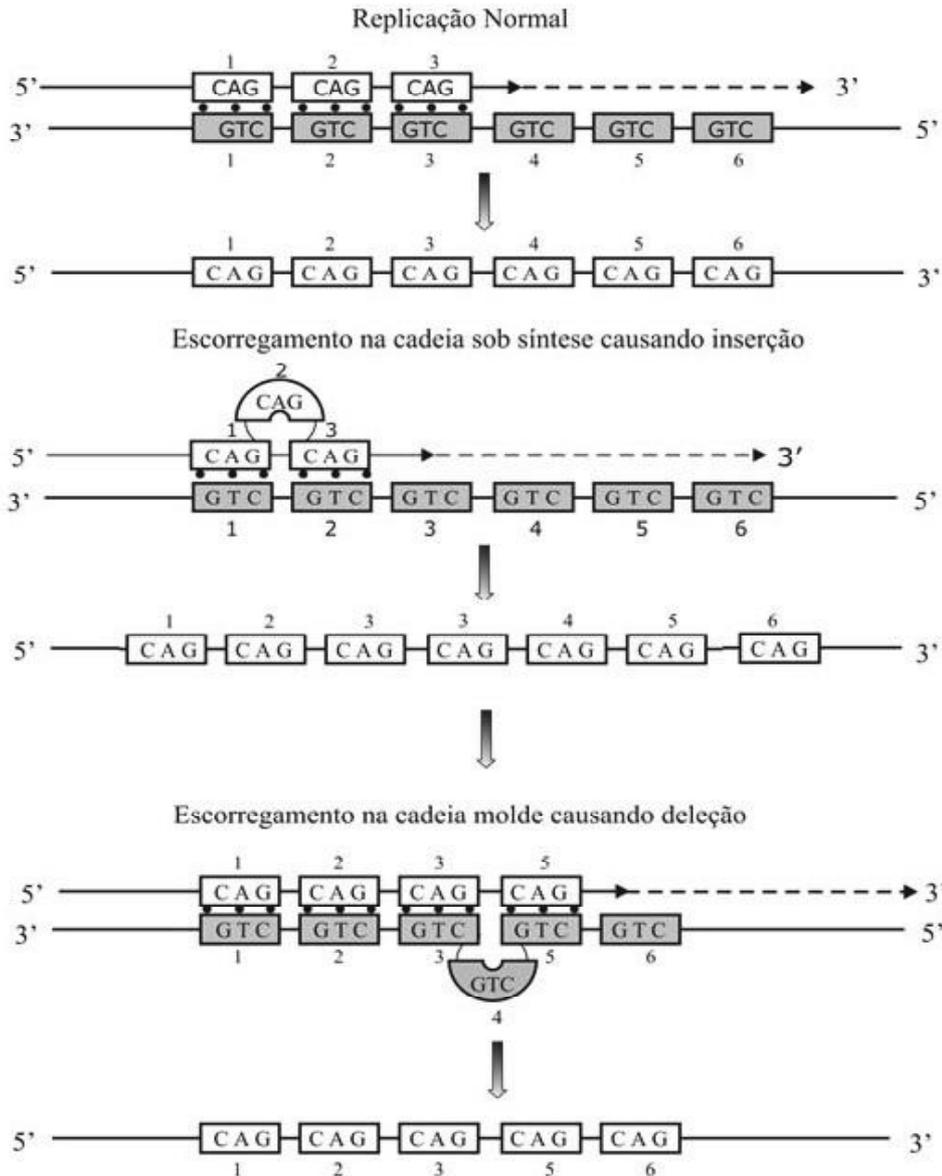
O microssatélite é uma classe de sequências de DNA repetitivo que ocorre em todos os organismos, incluindo os eucariontes e procariontes. Eles consistem em repetições de sequências geralmente de dois a seis nucleotídeos, ocupando uma extensão de até 100 pares de bases. As sequências mais comumente repetidas em plantas são  $(AT)_n$ ,  $(GT)_n$  e  $(AG)_n$  e, em animais é mais comum a  $(AC)_n$ . Essas sequências são distribuídas em todo o genoma e são flanqueadas por sequências altamente conservadas. As sequências de microssatélites ocorrem tanto nas regiões que codificam quanto naquelas que não codificam, porém, suas frequências são maiores nas sequências transcritas.

Os microssatélites são originados durante a replicação do DNA, em razão do pareamento desalinhado de sequências repetidas, também denominado de escorregamento (Figura 18.8). Em consequência desse pareamento desalinhado, ocorre um reparo decorrente do pareamento errado, o qual está associado a uma taxa de mutação muito elevada, cerca de  $10^{-6}$  a  $10^{-2}$  por geração (Trojanowska e Bolibok, 2004). Esse pareamento desalinhado em eucariontes é também responsável pela permuta desigual que está esquematizada na Figura 18.9. Em consequência da permuta desigual há a produção de números variados das unidades repetidas, de forma que cada fragmento de microssatélite assume comprimentos diferentes que podem ser identificados em eletroforese. Cada um desses fragmentos de um dado loco é equivalente a um alelo de um gene, tornando assim um dos marcadores com maior variabilidade alélica.

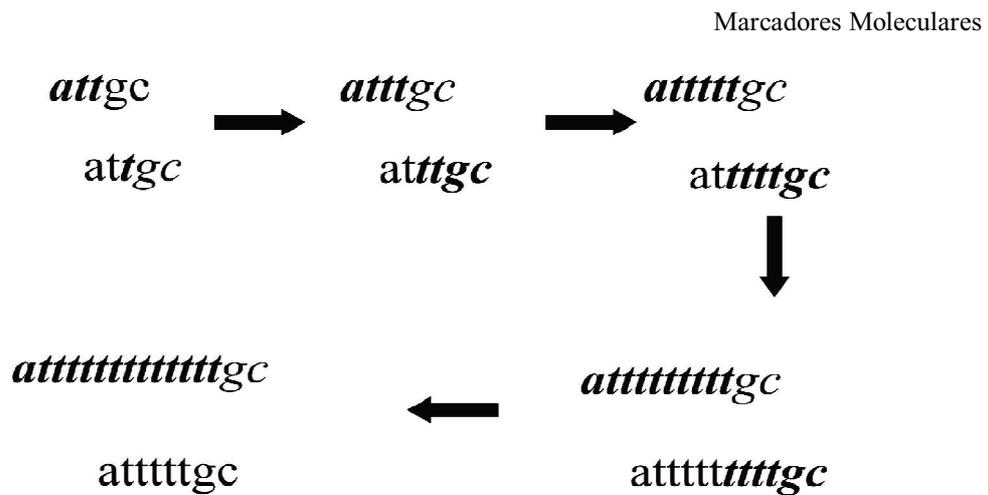
Os microssatélites podem ser perfeitos, isto é, serem arranjados de modo simples com várias repetições, geralmente de dois até seis nucleotídeos como  $(N_1 \dots N_6)_n$ . Eles podem também ser imperfeitos com unidades diferentes ocorrendo juntas e repetidas como  $(CA)_n(GT)_n$  e pode ainda ocorrer regiões espaçadoras entre as unidades repetidas como  $(CA)_n(N)_n(GT)_n$ . Os fragmentos utilizados como marcadores devem ser aqueles flanqueados por sequências conservadas. Assim, são sequenciados esses flancos e construídos primers complementares a eles e que amplificam os microssatélites por meio de uma reação de PCR.

Em decorrência do processo laborioso de obtenção dos primers, os microssatélites ainda possuem uso restrito às espécies mais importantes, embora sejam considerados um

dos marcadores mais eficientes. Basicamente existem duas estratégias para se identificar os microsossatélites de uma dada espécie: a. Detecção de seqüências que possuem microsossatélites nas bases de dados disponíveis na internet; b. Construção e seleção de livreria genômica ou outra como de ESTs (Expressed Sequence Tag), que correspondem a seqüências de cDNA provenientes de RNAs que se expressam (mRNAs).



**FIGURA 18.8.** Pareamento desalinhado durante a replicação (escorregamento = slippage) de seqüências repetidas, resultado em moléculas com duplicação (acima) e deficiência (abaixo).



**FIGURA 18.9.** Permuta desigual entre cromossomos homólogos, cada um representado por uma cadeia de DNA, resultando na produção de cromátides duplicadas em itálico e deficientes.

A primeira estratégia é menos onerosa e é rápida, uma vez que as sequências já estão disponíveis nos bancos de dados, embora tais sequências sejam mais abundantes para aquelas espécies de maior importância econômica ou científica. Além disso, quando essas sequências são derivadas de genes expressos, considerável número de microssatélites deixarão de ser identificados, porque grande parte dos microssatélites ocorre em regiões que não codificam e que representam de 95% a 99% do genoma.

A construção de livreria pode ser enriquecida ou não enriquecida. O procedimento de livreria enriquecida tem sido preferido atualmente e um dos métodos mais usados é a sua construção por meio de hibridização seletiva com fragmentos de DNA, usando esferas magnéticas cobertas com estreptoavidina ou membranas de nylon. O procedimento compreende os seguintes passos: a. digestão do DNA e ligação dos fragmentos a adaptadores; b. hibridização com sondas de microssatélites com biotina, seguida pela ligação às esferas com estreptoavidina; c. eluição dos fragmentos de DNA ligados às esferas e amplificação por meio de PCR, utilizando-se primers complementares aos adaptadores; d. clonagem dos produtos amplificados em vetores; e. transformação de *E. coli*; f. sequenciamento dos clones positivos. Embora esse método tenha apresentado eficiência de mais de 50%, uma deficiência é o uso de apenas uma ou poucas sondas de microssatélites presas às esferas. Uma alternativa é o uso de membranas de nylon com muitas sondas de oligonucleotídeos de microssatélites, resultando em uma eficiência de 50% - 70%.

Muitos microssatélites vêm sendo identificados a partir de ESTs. Para se ter idéia do trabalho envolvido nessa fase inicial de obtenção dos primers, uma livreria de ESTs de centeio, contendo mais de 8000 cDNAs teve cada fragmento sequenciado. Entre esses fragmentos, 528 possuíam microssatélites com unidades di, tri e tetranucleotídeos. Como o fragmento adequado para constituir um marcador necessita estar flanqueado por sequências conservadas



e ter um tamanho viável de ser identificado em eletroforese, apenas 157 sequências foram úteis para o desenho de primers.

Espécies que tiveram seus genomas sequenciados permitiram que aumentasse significativamente o número de primers SSR. Esse é o caso do arroz que teve o sequenciamento do genoma concluído em 2002 e, em 2004, o número de primers SSR passou de cerca de 1000 para 25.000 (Edwards e McCouch, 2007).

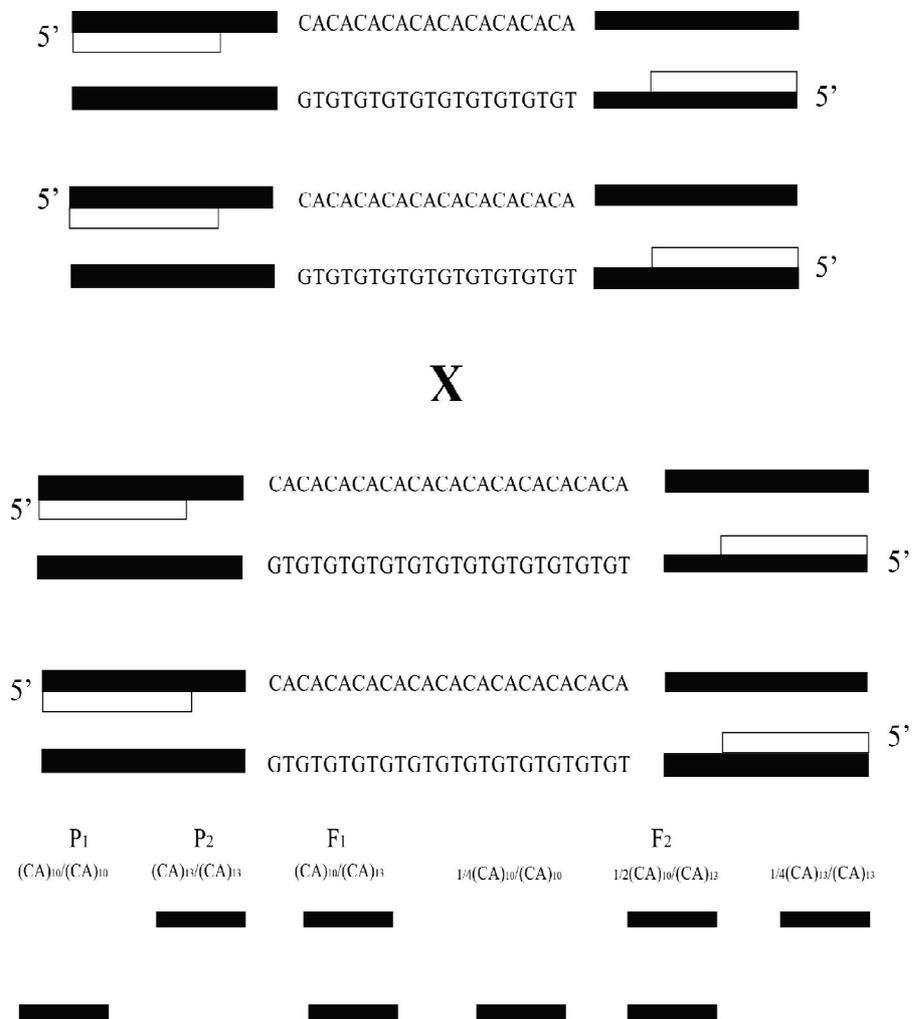
Os microsatélites possuem herança codominante como ilustrado na Figura 18.10. Observa-se que o indivíduo  $P_1$  é homozigoto, pois possui duas sequências com 10 repetições do dinucleotídeo CA, ou seja, representando apenas uma cadeia de cada molécula do DNA tem-se  $(CA)_{10}/(CA)_{10}$ . Já o  $P_2$ , também homozigoto, possui duas sequências com 13 repetições do dinucleotídeo, isto é,  $(CA)_{13}/(CA)_{13}$ . Nota-se que cada fragmento de DNA a ser amplificado é constituído por duas sequências situadas nas extremidades, que correspondem aos segmentos conservados e é onde estão situados os sítios do par de primers. Essas sequências estão flanqueando a sequência de DNA altamente repetitivo. Em cada homozigoto existe apenas um tamanho de fragmento a ser amplificado e corresponde a um alelo. Nos dois indivíduos  $P_1$  e  $P_2$  esses fragmentos diferem em tamanho, em razão dos diferentes números de repetições das unidades repetidas, ocorrendo assim, dois alelos diferentes. Portanto, o número de alelos diferentes que pode ser identificado em uma população de indivíduos varia em função da alteração do número de unidades do DNA repetitivo e que podem ser distinguidas em eletroforese.

Quando os dois genitores  $P_1$  e  $P_2$  são cruzados é produzido o descendente  $F_1$  que é heterozigoto e pode ser representado por  $(CA)_{10}/(CA)_{13}$ . Na geração  $F_2$  espera-se  $\frac{1}{4}$  de descendentes  $(CA)_{13}/(CA)_{13}$ ,  $\frac{1}{2}$   $(CA)_{10}/(CA)_{13}$  e  $\frac{1}{4}$   $(CA)_{10}/(CA)_{10}$ . Observa-se na Figura 18.10 que os genótipos dos genitores, da  $F_1$  e as três classes genotípicas da  $F_2$  podem ser diferenciadas na eletroforese dos produtos das reações de microsatélites, caracterizando uma interação alélica do tipo codominante. Dada essa possibilidade de se poder identificar todos os genótipos pelo fenótipo (padrões de bandas), o microsatélite torna-se um marcador molecular mais informativo do que os marcadores dominantes, especialmente quando se analisa vários genótipos diferentes e pode-se identificar vários alelos.

Os microsatélites apresentam distribuição aproximadamente aleatória no genoma, embora existam regiões com maiores abundâncias dessas sequências, como as regiões próximas do centrômero e dos telômeros. Entretanto, como já citado, atualmente vários microsatélites vêm sendo identificados dentro de genes. Há uma tendência dos microsatélites genômicos serem ligeiramente mais polimórficos do que os derivados de ESTs, provavelmente porque as regiões genômicas que não codificam são menos afetadas pela seleção natural.

Outra classe de marcadores que se baseia no DNA altamente repetitivo é o ISSR (Inter-simple sequence repeat). Nesse caso usa-se um único primer com cerca de 16b –

18b de DNA com sequência repetida, que é complementar aos sítios invertidos de microssatélites e que amplificam fragmentos de 100-3000pb. Os resultados de uma reação de PCR constam geralmente de 25 a 50 fragmentos amplificados, de diferentes locos. Esse número de bandas é detectado em gel com 4% a 6% de poliacrilamida. A vantagem desse procedimento é dispensar o laborioso trabalho de obtenção dos primers de microssatélites e o grande número de bandas que pode ser obtido. Entretanto, como desvantagem, os ISSR apresentam herança principalmente dominante e, as várias bandas derivadas de um primer podem ser oriundas de diferentes locos, isto é, os produtos de um primer podem ser mapeados em diferentes locais no mapa molecular, dificultando o seu uso nos trabalhos de mapeamento.

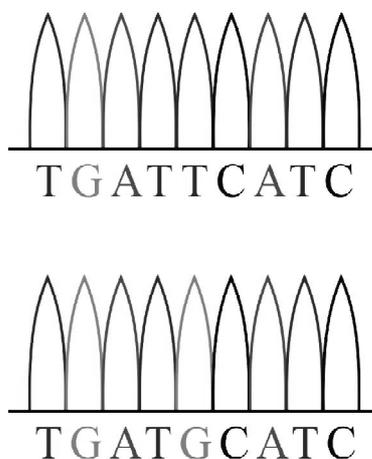


**FIGURA 18.10.** Cruzamento de dois genitores puros e contrastantes em um loco microssatélite, com os respectivos padrões de banda em um gel, juntamente com os descendentes F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub>, caracterizando a interação alélica codominante.

### 18.3.2.5 SNP – Polimorfismo Mononucleotídeo

O polimorfismo mononucleotídeo ou SNP da expressão Single Nucleotide Polymorphism, é uma pequena variação genética em um único nucleotídeo, por exemplo, quando a **A** é substituída por uma das três outras bases nitrogenadas (**G**, **C** ou **T**). Um exemplo de um SNP é a alteração do segmento de DNA **AAGGTTA** para **ATGGTTA**, onde o segundo **A** da primeira sequência foi substituído por **T**. Além da substituição, também pode ocorrer adição ou deleção de uma única base (indels). Tanto a substituição quanto a adição ou deleção ocorrem raramente, cerca de  $10^{-7}$  alterações por local e por geração. A diferença desse marcador em relação aos demais é a sua maior abundância. Em humanos estima-se a ocorrência de uma alteração entre cada 1000 bases. Em milho, constatou-se um polimorfismo a cada 70 bases. Evidentemente, a maioria desse polimorfismo ocorre em regiões que não codificam, uma vez que a parcela do genoma que codifica corresponde de 1% a 5%.

Ao se sequenciar várias sequências homólogas, podem ser identificados polimorfismos entre elas, decorrentes dos nucleotídeos únicos ou SNPs, e, a partir daí, ter-se idéia das mutações de ponto que ocorreram (Figura 18.11). Caso essas sequências homólogas sejam alelos de um gene, pode-se ter idéia das mutações que os geraram. Por isso, os SNPs vêm sendo muito empregados na análise de ESTs, isto é, das sequências expressas identificadas, que são provenientes de mRNAs.



**FIGURA 18.11.** Esquema do resultado de sequenciamento de dois segmentos homólogos de DNA com um SNP, a substituição da quinta base T a partir da esquerda por G.

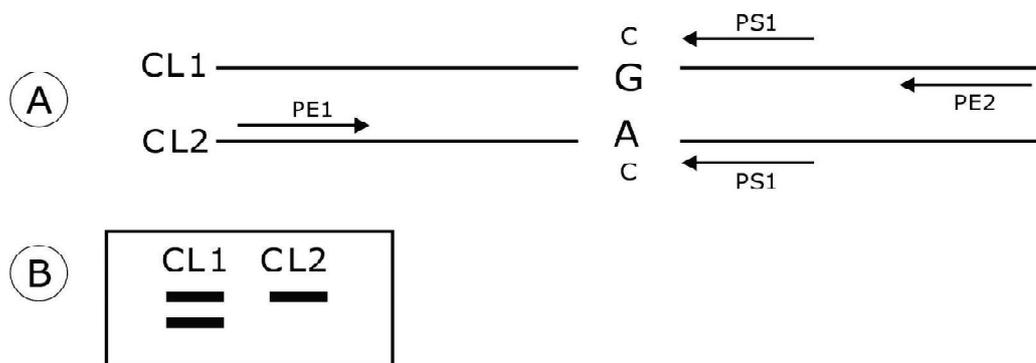
Entre todos os marcadores os SNPs são os que permitem identificar mais polimorfismos entre indivíduos e, por isso, eles já vêm sendo amplamente utilizados em humanos. Cerca de 3,1 milhões de SNPs já foram identificados em uma população de 270 humanos amostrada em quatro regiões do mundo (Frazer et al., 2007).

Em humanos os SNPs vêm sendo muito usados na identificação de alelos relacionados à várias doenças. Uma delas é o mal de Alzheimer e foi identificado por meio de dois SNPs, três alelos, E2, E3 e E4, que codificam, cada um para uma proteína (cadeia polipeptídica *ApoE*) que difere em apenas um aminoácido. Constatou-se que a proteína derivada do alelo E4 aumenta a probabilidade do indivíduo desenvolver o mal de Alzheimer, mesmo que ele receba apenas um alelo E4 de seus genitores. Já, os indivíduos que recebem o alelo E2 têm menos chance de desenvolver a doença. Assim, a verificação do SNP que identifica o E4 em um indivíduo indica que ele tem maior pré-disposição de desenvolver a doença. Entretanto, apenas esse resultado não implica que ele terá a doença, a qual por ser um caráter quantitativo, também depende de outros genes.

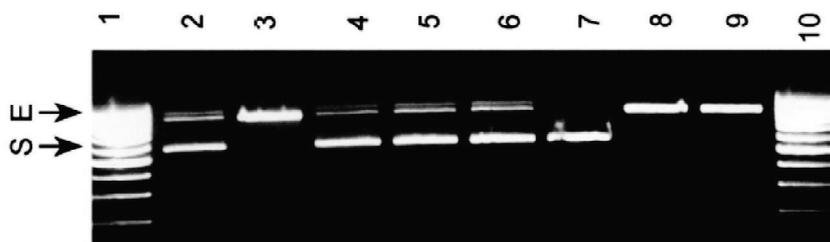
Atualmente, os SNPs vêm também sendo usados em plantas dado ao seu enorme potencial de identificar polimorfismo. Um exemplo do emprego dos SNPs é o trabalho realizado por Quirino (2003) em cana-de-açúcar visando a identificar alelos de resistência de duas doenças, causadas pela *Xanthomonas albilineans* e pela *Puccinia melanocephala*. Para isso, foram inicialmente identificados dois ESTs da cana-de-açúcar com sequências semelhantes à de genes de resistência à patógenos. Os genes de patógenos utilizados como referência foi o alelo Xa1 de arroz, que confere resistência à *Xanthomonas*, e o alelo Rp1-D de milho, que confere resistência ao agente da ferrugem. A partir deles foram construídos primers que amplificaram sequências homólogas em várias cultivares de cana-de-açúcar, resistentes e suscetíveis aos patógenos. As bandas geradas foram clonadas em plasmídeos de bactérias e, posteriormente, foram sequenciadas. A partir da comparação das sequências, quatro a seis diferentes nucleotídeos foram encontradas entre as cultivares para cada uma das doenças. Essas diferenças podem explicar os alelos para resistência e suscetibilidade.

Entretanto, em razão do custo do sequenciamento, técnicas alternativas vêm sendo propostas para reduzir o custo de identificar os SNPs (Soleimani et al., 2003). Uma dessas técnicas é a AS-PCR ou PCR alelo específico (Figuras 18.12 e 18.13).

Essa técnica tem a vantagem da simplicidade e confiabilidade da PCR. Além disso, com a disponibilidade nos bancos públicos de sequências, inúmeros ESTs estão disponíveis para várias espécies importantes. Podem ser obtidas sequências homólogas de ESTs, portanto, derivadas de alelos diferentes de um dado gene, as quais, quando alinhadas, podem ser desenhados os primers que permitem a identificação de SNPs em alelos específicos, bem como a identificação desses alelos em genótipos específicos da espécie.



**FIGURA 18.12.** Diagrama mostrando a PCR alelo específico, AS-PCR (Allele-Specific PCR) para identificar SNPs. a. Alinhamento das sequências dos ESTs de duas cultivares (CL1 e CL2) com a transição G/A (SNP). Os primers PE1 e PE2 foram desenhados a partir da sequência de consenso dos ESTs. O primer PS1 foi desenhado para detectar o polimorfismo no SNP, porque ele tem C na sua posição 3' e amplifica o alelo com G mas não o com A pela não complementaridade. O alelo de CL2 poderia ser detectado com um primer que difere do PS1 apenas em 3' com T em vez de C. b. Perfil de bandas resultante da amplificação da AS-PCR. Note que CL1 tem duas bandas indicando a presença de G no loco do SNP, enquanto a CL2 tem apenas uma mostrando a falta do G naquele loco (Soleimani et al., 2003).



**FIGURA 18.13.** Perfil de bandas geradas para identificar o SNP066, em 8 cultivares de cevada, usando os primers EST21L 5'-ATCAATGGAGATTTGCTTAC-3' e EST21R 5'-GTGTTTACATGCTTGTCATA-3'. Além desses, foi usado também na reação o primer 5'-TGAAGCTGTTCAAAGTAGAGCA-3' que amplifica o SNP que tem T na posição correspondente 3' do primer. As colunas 1 e 10 têm os DNAs marcadores de tamanho de bandas (DNA ladders). As colunas 2-9 são as 8 cultivares de cevada e o S indica a presença do SNP com T em 3' nas cultivares, enquanto a ausência indica outros alelos que podem ter no lugar do T, o A ou G ou C. A banda E corresponde a amplificação do loco do EST e serve como controle positivo.

Como citado na figura 18.12, não é possível identificar os outros alelos SNPs na mesma reação PCR. Uma alternativa seria construir outros primers que identificariam os outros alelos do SNP.

Com a identificação de um conjunto de alelos importantes de diferentes genes de uma espécie, algumas empresas de melhoramento têm utilizado os SNPs para realizar a seleção

assistida nos programas de melhoramento. Isto é, as plantas de uma população segregante que reunirem o maior número de marcadores estariam mais próximas do ideal e seriam selecionadas.

## 18.4 EMPREGO DOS MARCADORES MOLECULARES

### 18.4.1 Estudo de parentesco

A obtenção de marcadores distribuídos aleatoriamente no genoma, permite que eles sejam utilizados para identificar o parentesco entre dois ou mais indivíduos.

#### 18.4.1.1 Teste de paternidade

Atualmente, o teste de paternidade vem sendo rotineiramente empregado em humanos para fins judiciais. Uma aplicação semelhante também vem sendo feita na identificação de cultivares em disputa judicial e mesmo no melhoramento de plantas e animais, para eliminar dúvidas sobre paternidade.

O marcador mais utilizado para esse fim é o microssatélite pois, basta obter uma pequena quantidade de DNA dos indivíduos, cujo parentesco precisa ser determinado e realizar reações de PCR com alguns pares de primers específicos da espécie sob júdice. Portanto, é simplesmente uma aplicação de conhecimentos de genética mendeliana para se interpretar os resultados. Por exemplo, suponhamos que um homem questione se um filho de uma mulher é também seu filho. Para isso, toma-se uma amostra de DNA dos três indivíduos e realiza-se a PCR com 10 pares de primers SSR. Suponhamos que dois pares de primers identifiquem quatro alelos nos dois prováveis genitores, por exemplo,  $P_1 (A^1 A^2)$  e  $P_2 (A^3 A^4)$ . Cinco pares identifiquem três alelos, por exemplo,  $P_1 (A^1 A^2)$  e  $P_2 (A^1 A^3)$ . Para os três pares restantes de primers identifiquem dois alelos, por exemplo,  $P_1 (A^1 A^2)$  e  $P_2 (A^1 A^2)$ . A partir daí, pode-se prever os genótipos (fenótipos ou padrões de bandas) esperados nos filhos com as respectivas frequências. Se o padrão de bandas do filho sob dúvida for igual a um dos padrões esperados, o homem é o pai. Como podem ocorrer várias combinações de alelos nos genitores nos 10 locos, pode-se afirmar que o homem é o pai com 99,80469% a 99,9999046% de certeza. Portanto, o marcador é uma ferramenta de grande utilidade para esse fim, pois, no caso de humanos, antes do surgimento dos marcadores, utilizava-se o teste dos tipos sanguíneos dos indivíduos envolvidos e somente em alguns casos conseguia-se provar a paternidade.

Uma aplicação semelhante vem sendo adotada pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) para identificar o tráfico de papagaios. No caso, o procedimento consiste em cadastrar todas as matrizes dos criadouros autorizados com microssatélites. A partir do perfil de bandas dessas matrizes é possível prever os filhos. Se os animais apreendidos forem diferentes desses previstos significa que são oriundos de tráfico (Kalapothakis, 2007).

Em plantas, o teste de paternidade é realizado de forma semelhante. Porém, outra aplicação é verificar o fluxo gênico, no caso de transgênico, ou verificar misturas de sementes transgênicas e não transgênicas, ou mesmo, verificar traços de transgênicos misturados em qualquer alimento. Nesse caso de mistura de transgênicos, basta tomar amostras de DNA do material sob dúvida e utilizar apenas um par de primer de PCR que amplifica todo ou normalmente parte do gene do transgênico. A técnica denominada de PCR em tempo real permite que esses testes sejam feitos rapidamente para se determinar a contaminação. Essas técnicas são utilizadas em algumas alfândegas ou barreiras de fiscalização.

Uma aplicação importante no melhoramento é a identificação de descendentes zigóticos em espécies que possuem poliembrionia como em *Citrus*. Em tais espécies, alguns descendentes são derivados do cruzamento e, portanto, herdam alelos de ambos os genitores, enquanto que outros descendentes são derivados exclusivamente da mãe, geralmente de um embrião diferenciado de uma célula da nucela, um tecido do ovário. Um exemplo é um estudo realizado na UFLA visando à identificação de descendentes zigóticos a partir do cruzamento de Ponkan com uma cultivar de citrus denominada Folha Murcha (Figura 18.14).



**FIGURA 18.14.** Identificação de progênes zigóticas descendentes do cruzamento de Ponkan x Folha Murcha por meio de marcadores microssatélites. Os descendentes zigóticos são os portadores da banda polimórfica nos genitores e derivada do genitor masculino (seta).

Um procedimento denominado impressão digital (fingerprinting) consiste em utilizar vários marcadores que identificam um genótipo particular. Ele vem sendo empregado atualmente para auxiliar na identificação de cultivares e linhagens melhoradas de plantas. Para isso, utilizam-se vários marcadores como o AFLP e os microssatélites, que estão entre os mais confiáveis. A impressão digital pode ser um dos meios de auxiliar na identificação da cultivar ou linhagem durante o seu registro no Ministério da Agricultura e também serve para o proprietário questionar o uso indevido das mesmas, como roubo, por exemplo.

No exemplo mencionado sobre a pirataria de papagaios no Brasil, o cadastramento das matrizes com microssatélites é o fingerprinting dessas aves, permitindo a genotipagem de cada uma, a distinção entre elas e a identificação de seus filhos.

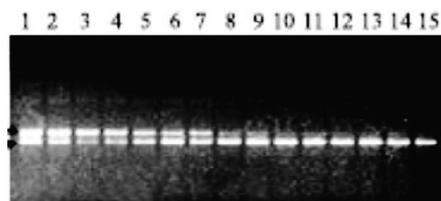
### 18.4.1.2 Determinação da pureza varietal e do fluxo gênico

Na certificação de cada cultivar, são utilizados os caracteres descritores, especialmente os que se expressam na semente. Ocorre que esses caracteres, como cor de tegumento ou listra na semente, podem mudar de tonalidade, por influência ambiental e condicionar a rejeição do lote de sementes, sob a alegação que ele não é puro e sim uma mistura de diferentes genótipos. O uso de marcadores, especialmente os codominantes como os microssatélites, que não são afetados pelo ambiente, pode auxiliar na verificação da ocorrência ou não de misturas.

Para a reprovação de um lote de sementes de soja, por exemplo, é necessário ocorrer mais de cinco sementes fora do padrão em 0,5 Kg (4000 a 5000 sementes). Um procedimento usado por Schuster et al. (2004), consistiu em avaliar entre 5 e 25 sementes atípicas de 21 lotes de sementes de oito cultivares, por meio de marcadores microssatélites.

Para reduzir o número de reações SSR e custo de cada lote, as sementes atípicas tiveram o DNA extraído de cada uma e, posteriormente, foi realizada a mistura (bulk) equitativa de DNAs de 5 a 8 sementes. Os autores mostraram que se dois DNAs diferentes (A e B) são misturados nas proporções de 1A:1B até 1A:15B, detecta-se o alelo mais raro de SSR até na mistura de 1A:7B (Figura 18.15).

Para se detectar quais sementes atípicas são decorrentes da mistura genética, verificam-se duas ou mais bandas (alelos) a partir do uso de um par de primer. Se as sementes atípicas não são decorrentes da mistura genética observa-se apenas uma banda, aquela correspondente a da semente padrão da cultivar (Figura 18.16). Quando se observa a mistura em um bulk, os DNAs das sementes são analisados separadamente para se comprovar a mistura.

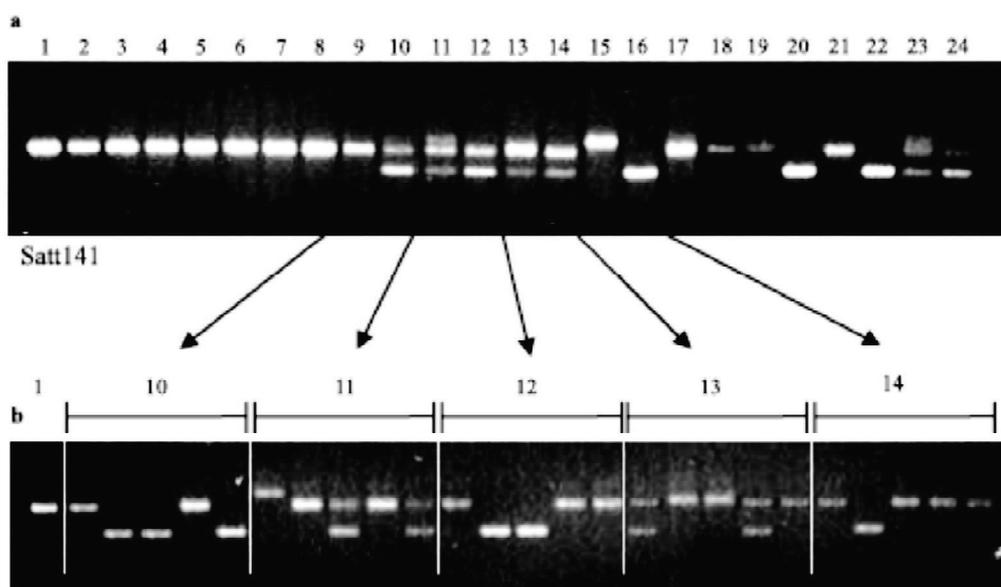


**FIGURA 18.15.** Amostras de DNA de soja contendo dois alelos (A<sup>1</sup>=banda superior e A<sup>2</sup>=banda inferior) para o loco Satt181. As canaletas 1 a 15 apresentam o resultado da amplificação das misturas na proporção 1A<sup>1</sup>:1A<sup>2</sup> (canaleta 1) até 1A<sup>1</sup>:15A<sup>2</sup> (canaleta 15). Gel de agarose 3% corado com brometo de etídeo (Schuster et al., 2004).

Uma questão é qual o número de sementes que deve ser analisado por lote? Isso depende do grau de precisão que se pretende na análise, porque a probabilidade de não se observar um alelo derivado de mistura, que está presente na população (probabilidade de falso negativo) é dada pela expressão  $P = (1-f)^n$  em que: P é a probabilidade de falso negativo; f é a frequência do

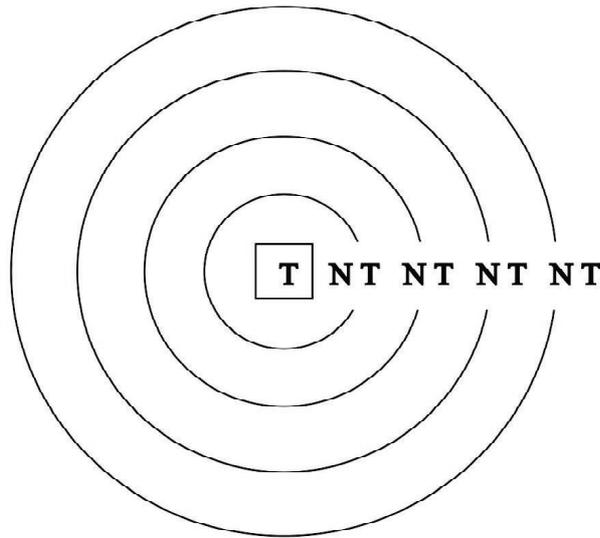
alelo misturado no lote de semente;  $n$  é o número de indivíduos da amostra. Ainda segundo os autores, com uma amostra de 15 sementes detecta-se um alelo com frequência igual ou maior de 26% com 99% de probabilidade. Se for adotada a probabilidade de 95%, nas mesmas 15 sementes, pode-se detectar um alelo com frequência igual ou maior de 18%.

Um procedimento semelhante pode ser usado para a detecção de fluxo gênico de um transgênico (T) em uma cultivar não transgênica (NT). Para isso, pode-se usar o esquema experimental ilustrado na Figura 18.17. Nessa área coloca-se a cultivar transgênica no centro e nos círculos concêntricos são os locais aonde irão se tomar amostras de sementes da cultivar não transgênica. As distâncias entre os círculos dependem, evidentemente, da capacidade de dispersão de pólen da espécie. Em cada círculo concêntrico deve-se tomar uma amostra de, por exemplo, 20 sementes, extrair o DNA de cada e realizar uma PCR para o primer do transgênico. Para reduzir o custo, pode-se realizar a reação em bulks de DNA de 8 sementes. Um procedimento alternativo e até mais simples, no caso de transgênico para resistência à herbicida, consiste em germinar as sementes coletadas naqueles círculos e tratá-las com o herbicida, identificando, assim, a frequência de plantas que receberam o pólen do transgênico.



**FIGURA 18.16.** Análise de pureza varietal em sementes de soja, variedade CD 209, utilizando amplificação de DNA de sementes: a. Bulks de sementes (canaletas de 1 a 14, 23 e 24) e sementes individuais (canaletas 15 a 22). Canaletas 1 a 3: amostra padrão; 4 a 9: lote no 1; 10 a 12: lote no 2; 13 e 14: lote no 3; 23: mistura das amostras 15 a 18; 24: mistura das amostras 19 a 22. As canaletas 15 a 22 contêm DNA de 8 cultivares utilizadas como controle de polimorfismo; b) Amplificação do DNA de cada uma das sementes constituintes dos bulks que apresentaram variação. A canaleta 1 contém DNA de 5 sementes da amostra padrão. As canaletas seguintes contêm DNA de sementes individuais utilizadas na construção dos bulks analisados (Schuster et al., 2004).

Quando não for possível usar o transgênico, podem-se utilizar duas cultivares diferentes em um caráter monogênico de fácil identificação, como cor de hipocótilo ou cor de flor. No centro do esquema experimental ilustrado a seguir, deve-se semear a cultivar portadora do fenótipo dominante.



**FIGURA 18.17.** Esquema experimental que pode ser utilizado para se avaliar a extensão de fluxo gênico. No centro da área, semeia-se a cultivar transgênica e nos círculos concêntricos toma-se amostra de uma cultivar não transgênica para se avaliar a ocorrência de fluxo gênico.

### 18.4.1.3 Estimativa da taxa de cruzamento

Determinar a taxa de cruzamento de uma espécie é de grande importância tanto para fins de conservação da variabilidade e, principalmente, para orientar os trabalhos de melhoramento. Em espécies cultivadas um procedimento consiste em tomar duas linhagens e semeá-las em linhas alternadas. Pode-se determinar a taxa de cruzamento analisando-se um caráter qualitativo qualquer contrastante nas duas linhagens ou utilizando-se um marcador dominante ou codominante.

Com um marcador dominante, identifica-se uma banda polimórfica nas duas linhagens. Colhe-se uma amostra de 100 sementes na linhagem que não possui a banda, extrai-se o DNA delas, ou germina-as e extraia o DNA de folhas jovens de cada planta (seedling). A taxa de cruzamento é o dobro da porcentagem de plantas  $F_1$  com banda (Figura 18.18). Por exemplo, se entre as 100 plantas 3 possuem a banda, a taxa de cruzamento é de 6%. A razão de se multiplicar por dois é porque entre as plantas da

linhagem sem banda, também se espera ter havido a mesma taxa de cruzamento que não foi detectada pelo marcador.

No caso de se utilizar um marcador codominante polimórfico, a amostra de 100 plantas pode ser colhida em qualquer das linhagens e a planta  $F_1$  terá as duas bandas das linhagens genitoras. Também, aqui, a taxa de cruzamento é o dobro da porcentagem de plantas  $F_1$  (Figura 18.18).

Marcador Dominante			Marcador Codominante		
$P_1$	$P_2$	$F_1$	$P_1$	$P_2$	$F_1$
—		—	—	—	— —

**FIGURA 18.18.** Resultado esperado na  $F_1$  derivada do cruzamento de duas linhagens puras e contrastantes para um marcador dominante ou codominante.

Há também a possibilidade de se estimar a taxa de cruzamento de uma espécie até mesmo selvagem, a partir de uma amostra de plantas e a utilização de um conjunto de marcadores polimórficos nessas plantas. Os marcadores podem ser dominantes ou codominantes. Se a amostra for de progênies com parentesco conhecido, como por exemplo, um conjunto de progênies de meio-irmãos, juntamente com as mães dessas progênies, consegue-se estimar a taxa de cruzamento de forma mais precisa. Em todos esses casos utiliza-se um software apropriado, como o MLDT (Ritland, 2011), para se obter a estimativa.

Outra aplicação dos marcadores muito útil no melhoramento é a confirmação da obtenção de um híbrido a partir de um cruzamento. No melhoramento sempre é necessário cruzar dois ou mais genitores para se obter o híbrido. Especialmente no caso de espécies autógamas é necessário realizar cruzamento artificial, o qual leva à falha, isto é, certa porcentagem dos supostos híbridos são, na verdade, produto de autofecundação do genitor feminino. Para se distinguir essas plantas autofecundadas das  $F_1$ , pode-se utilizar um marcador dominante ou codominante e comparar o padrão de bandas das plantas  $F_1$  com os padrões dos genitores (Figura 18.18).

#### 18.4.1.4 Diversidade Genética – Estimativa da Similaridade ou Dissimilaridade Genética

A diversidade genética é o polimorfismo entre indivíduos de uma população, em um ou mais fragmentos de DNA, identificados na forma de presença de bandas de tamanhos diferentes (alelos), derivadas de um mesmo loco, no caso de um marcador codominante, ou na presença e ausência de bandas, no caso de marcadores dominantes. Um procedimento amplamente

utilizado no estudo de diversidade consiste em obter um grande número de bandas polimórficas entre os indivíduos de uma população, sem se preocupar se a variabilidade é alélica ou gênica. Isto é, ao se analisar uma população de genótipos, com um marcador molecular qualquer, cada banda polimórfica estará presente em alguns genótipos e ausente em outros. Esse resultado é registrado por meio de uma matriz de dados de 0 e 1, correspondentes aos vários genótipos e as várias bandas, onde a presença da banda em um indivíduo é representada por 1 e a ausência por 0. Como a análise dessa matriz fica difícil para se tirar qualquer conclusão sobre o parentesco dos indivíduos, então estima-se, com esses dados, a similaridade genética entre os indivíduos. Existem várias fórmulas alternativas para se estimar a similaridade genética ( $sg_{ij}$ ) entre os indivíduos  $i$  e  $j$ . Uma expressão geralmente utilizada é a proposta por Jaccard, a partir da comparação de todas as bandas dos genótipos, dois a dois, por meio da expressão  $sg_{ij} = a/(a+b+c)$ . Nessa expressão, **a** significa o número de combinações com a presença de uma determinada banda nos indivíduos  $i$  e  $j$ ; **b** as combinações com a presença da banda no indivíduo  $i$  e ausência no  $j$ ; e **c**, as combinações com a ausência da banda no indivíduo  $i$  e presença no  $j$ .

A partir da estimativa de  $sg_{ij}$  pode-se obter a dissimilaridade genética ( $dg_{ij} = 1 - sg_{ij}$ ). Como as estimativas de  $sg_{ij}$  variam de 0 até 1, estimativas próximas de 0 indicam que dois indivíduos são geneticamente muito diferentes e próximas de 1, são muito similares. No caso de se usar a  $dg_{ij}$  interpreta-se de forma inversa, ou seja, estimativas próximas de 1 indicam que dois indivíduos são geneticamente muito diferentes e próximas de 0, são muitos similares.

Por exemplo, analisando-se  $g$  genótipos obtém-se  $g(g-1)/2$  estimativas de similaridade genética. Portanto, se fossem analisados 100 genótipos, seriam obtidas 4950 estimativas. Fica novamente claro que é impossível tirar qualquer conclusão sobre os parentescos dos indivíduos, analisando-se um grande número de estimativas. Para contornar esse problema, utilizam-se os procedimentos estatísticos de agrupamento de dados como, por exemplo, a análise dos vizinhos, ou estimativa dos componentes principais, ou das coordenadas principais, ou o uso da escala multidimensional. Os resultados dessas análises normalmente são representados em gráficos ou em dendrogramas.

Nas estimativas das similaridades feitas em uma amostra de genótipos considera-se o parentesco decorrentes dos locos amostrados, as quais devem variar se for repetida a amostra da variabilidade genética, ou seja, em cada amostra há um erro amostral. Assim, se comparo duas estimativas de valores diferentes, são elas realmente diferentes ou podem ser iguais, em razão do erro de amostragem dos locos? Assim, pode-se usar o teste  $t$  para verificar se duas estimativas de similaridade genética são estatisticamente iguais ou diferentes, por meio da expressão:  $t = (sg_1 - sg_2) / \bar{s}_{sg}$ . Nessa expressão  $sg_1$  e  $sg_2$  correspondem às duas estimativas quaisquer de similaridade genética, e  $\bar{s}_{sg}$  ao erro médio da similaridade genética. Para cada estimativa

de similaridade genética  $sg_{ij}$  estima-se o seu erro pela expressão:  $s_{sg} = [sg_{ij}(1 - sg_{ij})/n - 1]^{1/2}$  em que  $n$  é o número de dados utilizados na estimativa de  $sg_{ij}$ , isto é,  $a+b+c$  na expressão de Jaccard proposta anteriormente.

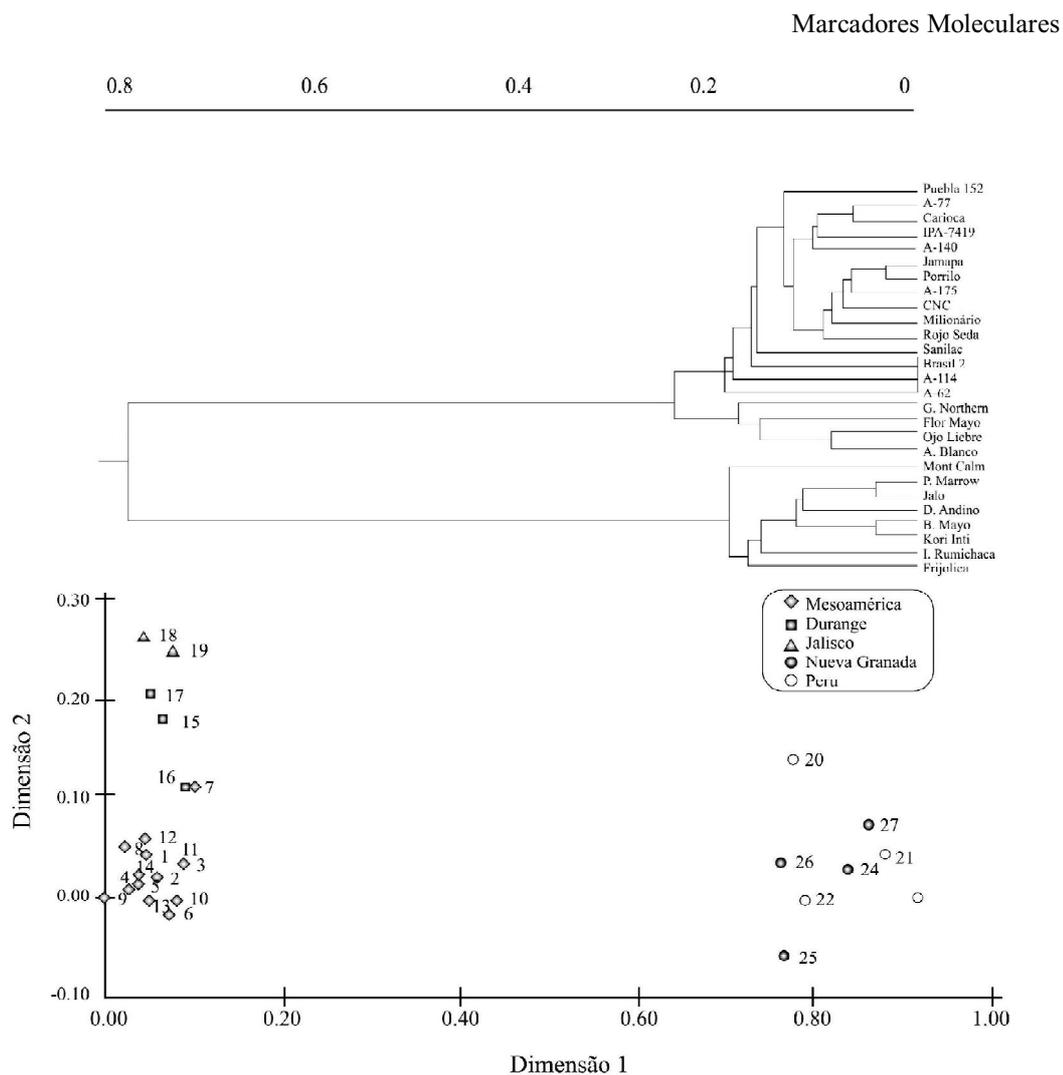
A similaridade ou dissimilaridade genética corresponde ao parentesco entre dois indivíduos, denominados por alguns autores de parentesco por estado, isto é, considera o parentesco com base na amostra de locos entre os indivíduos e não na origem dos alelos desses locos. Os marcadores moleculares têm sido considerados mais úteis para esse fim, pois fornecem o relacionamento com maior precisão em razão do maior polimorfismo e número de locos que podem ser amostrados, estabilidade ambiental, natureza genotípica e simplicidade prática. Estimativas de parentesco com base nos marcadores mostram estarem próximas da realidade quando comparadas com dados de genealogia, como ilustram os resultados obtidos por Hagiwara et al. (2001), utilizando duas populações de feijão obtidas por um e dois retrocruzamentos (RC), como indicado na Tabela 18.1.

Estudos de diversidade genética entre cultivares de feijão de diferentes origens foram realizados no Departamento de Biologia da UFLA (Duarte et al., 1999). As estimativas de dissimilaridade genética entre as cultivares permitem confirmar a origem de todas e inclusive, prever o nível de parentesco entre elas, como ilustra-se na Figura 18.19. Nota-se, nessa figura, que os dois grupos de cultivares mais discrepantes pertencem a dois subcentros de origem do feijão, um Andino e outro Mesoamericano, que inclui o maior número de cultivares estudadas.

**TABELA 18.1.** Similaridades genéticas observadas e estimadas entre os genitores e as populações descendentes por retrocruzamento.

Genitores	RC <sub>1</sub>		RC <sub>2</sub>	
	Observada	Esperada	Observada	Esperada
ESAL 696	0,72	0,80	0,68	0,62
G2333	0,41	0,40	0,36	0,33
CI140	-	-	0,63	0,70

Quando se usam marcadores codominantes, pode-se estimar a similaridade ou dissimilaridade genética considerando a variabilidade alélica e gênica. Nesse caso, além das estimativas de similaridade cujo significado é o mesmo já visto anteriormente, pode-se estimar também as frequências alélicas e inclusive o valor de cada loco marcador para se estimar a diversidade genética. O valor de um marcador ou loco será tão maior quanto maior for o número de alelos e suas frequências.



**FIGURA 18.19.** Dissimilaridade genética entre cultivares de feijão de origem andina e mesoamericana. Observe o dendrograma na parte superior da figura, onde se utilizou o método de agrupamento UPGMA (ou método com base na média dos vizinhos) e, na parte de baixo da figura o uso da escala multidimensional.

### Escolha de genitoras

Em geral, nos programas de melhoramento já em andamento, os melhoristas utilizam as linhagens selecionadas como parentais para dar continuidade ao programa. Uma dificuldade que ocorre é o fato das linhagens serem normalmente muito aparentadas, o que implica em reduzida variabilidade genética nas populações segregantes e pequeno sucesso com a seleção. O ideal seria utilizar as linhagens melhoradas como parentais, porém, cruzando-se aquelas geneticamente mais contrastantes. Há sugestões do uso de marcadores moleculares que possuem alta variabilidade para auxiliar na escolha daquelas linhagens de interesse. Entretanto,

alguns resultados são desencorajadores como os encontrados por Machado et al. (2000), que verificaram que a diversidade genética com base nos marcadores não mostrou associação com produtividade de grãos de feijão. Outra aplicação da diversidade genética é para selecionar entre um conjunto de linhagens aquelas que melhor se combinam para formar um híbrido de alta produtividade. Vários trabalhos já foram feitos, principalmente com milho. Os resultados dos vários estudos não são concordantes, isto é, em alguns casos os marcadores conseguem identificar as linhagens ideais, porém, em outros não conseguem, como observou Amorim (2005). Assim, com os resultados disponíveis infere-se que a diversidade genética estimada pelos marcadores moleculares não prevê, confiavelmente, os genitores ideais.

### **Organização de germoplasma**

A diversidade genética é também utilizada para auxiliar no manuseio dos bancos de germoplasma. Germoplasma é uma amostra da variabilidade genética ou alélica de uma espécie, como visto no capítulo 2. Essa variabilidade é preservada nos bancos para a maioria das espécies cultivadas e, com o passar do tempo, a tendência é o número dos representantes (acessos) da amostra ficar muito elevado e de manuseio impraticável. Esse grande aumento, em parte se deve a acessos duplicados ou muito similares.

Como o interesse é amostrar a variabilidade da espécie, o conhecimento do parentesco dos acessos de um banco é de grande utilidade, pois, permite eliminar acessos duplicados ou orientar na obtenção de outros não representados no banco. Para esse fim, os marcadores são muito eficientes, pois, a similaridade ou dissimilaridade genética corresponde à variação genética total entre os acessos e é, normalmente, correlacionada com a variação dos vários caracteres.

Outra aplicação da diversidade genética estimada por meio dos marcadores é na amostragem dos acessos do próprio banco para se obter uma coleção nuclear de germoplasma. Esta corresponde a 5% a 20% dos acessos de um banco e que deve representar cerca 80% da diversidade genética. A utilidade em obter uma coleção nuclear é para facilitar o manuseio de um menor número de acessos, que podem ser melhores caracterizados e torná-los mais disponíveis para uso no melhoramento.

### **Seleção assistida em retrocruzamento**

No melhoramento de plantas, esporadicamente é necessário utilizar genitores não adaptados, portadores de alelos favoráveis como os de resistência à patógenos. Nesse caso, as gerações descendentes terão 50% dos alelos de cada genitor e, portanto, daquele não adaptado são na maioria, alelos indesejáveis, exceto o favorável. Assim, um método geralmente empregado é o retrocruzamento, que consiste em cruzar a  $F_1$  novamente com o genitor adaptado (recorrente), assim como as várias gerações descendentes, para aumentar em cada uma a porcentagem de alelos do recorrente. O esquema seguinte representa a transferência do alelo de resistência à antracnose *Co-4* do genitor doador To em feijão, para o recorrente Carioca, que é suscetível.

Proporção de alelos	Semeaduras	Geração	Cruzamento
---	1 <sup>a</sup>	Genitores e Sem. F <sub>1</sub>	To (Co.4Co.4) x Carioca(co.4co.4)
50% To e 50% Carioca	2 <sup>a</sup>	Planta F <sub>1</sub>	Co.4co.4 x Carioca(co.4co.4)
25% To e 75% Carioca	3 <sup>a</sup>	Planta RC <sub>11</sub> (Inoculação)	50% co.4co.4 (eliminadas) 50% Co.4co.4 x Carioca(co.4co.4)
12,5% To e 87,5% Carioca	4 <sup>a</sup>	RC <sub>21</sub> (Inoculação)	50% co.4co.4 (eliminadas) 50% Co.4co.4 x Carioca(co.4co.4)
•	•	•	•
•	•	•	•
•	•	•	•
(1/2) <sup>m+1</sup> To e 1-(1/2) <sup>m+1</sup> Carioca	m + 2	RC <sub>m1</sub> (Inoculação)	50% co.4co.4 (eliminadas) 50% Co.4co.4 (autofecundada)
idem	m + 3	RC <sub>m2</sub> (Inoculação)	25% co.4co.4 (eliminadas) 75%Co.4___ (autofecundadas)
idem	m + 4	Progênes 100% resistentes selecionadas	

Nesse esquema, observam-se as porcentagens de alelos dos genitores doador e recorrente em cada geração de retrocruzamento (RC). O número de gerações RC é tanto maior quanto menos adaptado for o genitor doador, podendo-se chegar até a seis ou mesmo mais se o doador for selvagem. Nota-se que uma desvantagem desse método é o tempo e trabalho gasto em todas essas gerações de RC.

Entretanto, é importante frisar que as porcentagens de alelos do recorrente em cada geração de retrocruzamento é uma média. Mesmo no primeiro retrocruzamento (RC<sub>1</sub>), onde em média espera-se 75% de alelos do recorrente, teoricamente, dependendo do tamanho dessa população, há a possibilidade de ocorrer planta com até próximo de 100%. É aqui que a similaridade genética pode auxiliar na seleção dessas plantas. Basta estimá-la entre cada planta de RC<sub>1</sub> e o genitor recorrente. As maiores estimativas de similaridade indicam as plantas com maiores porcentagens de alelos do recorrente e que devem ser usadas num próximo retrocruzamento ou selecionadas.

A precisão dessa previsão aumenta com o uso de maior número de marcadores distribuídos o mais homogêneo possível em todos os cromossomos. Em milho, foi verificado que três marcadores em cada braço cromossômico, portanto, 60 marcadores, é o número ideal. Além da similaridade, uma alternativa é estimar a porcentagem de alelos marcadores do recorrente que ocorre em cada planta de retrocruzamento.

## 18.4.2 Uso de marcadores na identificação de genes

### 18.4.2.1 Construção de mapa molecular e identificação de QTL

À semelhança dos mapas genéticos, pode-se também construir um mapa de marcadores moleculares ou de “etiquetas”. A principal diferença em relação ao mapa genético, onde se usam apenas caracteres qualitativos, é o fato da quantidade de marcadores ser muito elevada, especialmente os de DNA, e pode-se em um curto espaço de tempo, conseguir um mapa genético molecular saturado. Isso quer dizer que se pode conseguir colocar marcadores próximos, por exemplo, distanciados de 10 cM em média, ou idealmente menos, em todos os cromossomos da espécie. Essa possibilidade cria uma grande expectativa, que é poder utilizar esse mapa para etiquetar todos os alelos dos genes de interesse, mesmo os responsáveis pelos caracteres quantitativos.

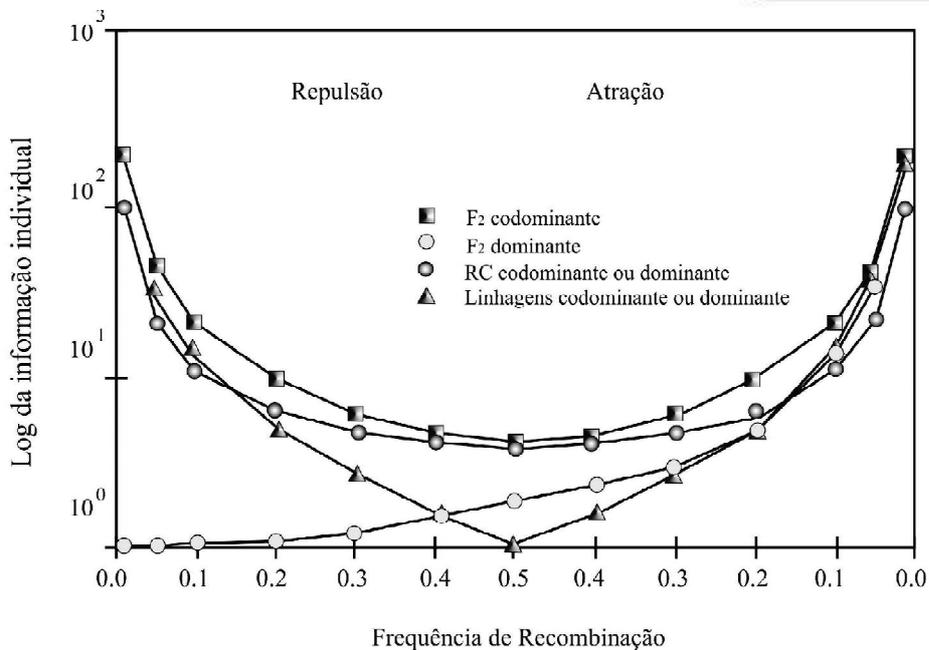
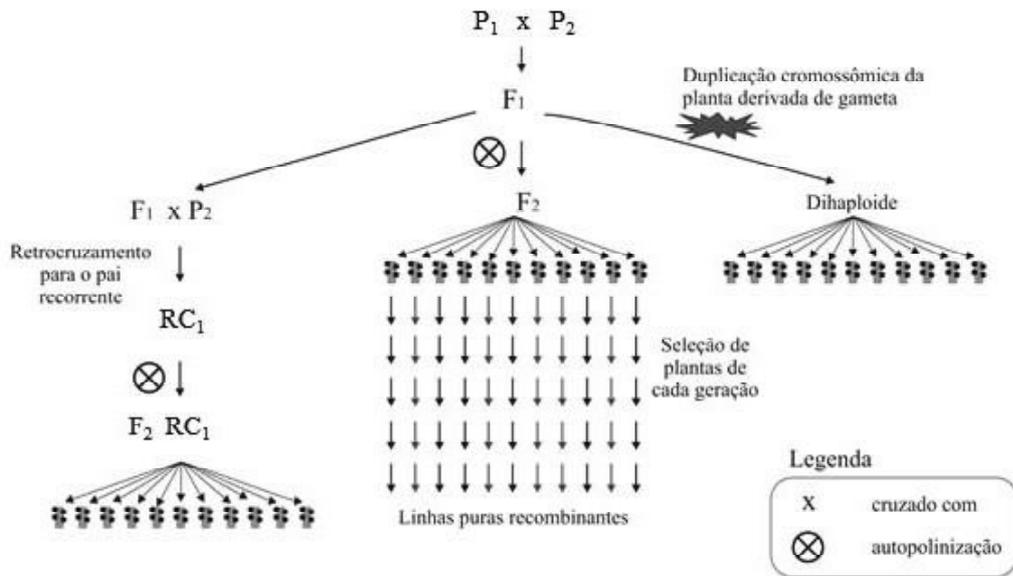
O procedimento para se construir um mapa molecular consta em primeiro lugar em cruzar genitores, fenotipicamente contrastantes ao máximo. A análise para a obtenção dos marcadores pode ser realizada na  $F_2$ , retrocruzamentos, em linhagens descendentes de cruzamentos biparentais e mesmo nos dihaploides (Figura 18.20). Podem-se utilizar tanto os marcadores dominantes quanto os codominantes, devendo-se preferir aqueles mais confiáveis ou reproduzíveis e também os de menor custo e que produzem resultados mais rápidos. Além disso, os codominantes são mais informativos especialmente quando se utiliza população segregante onde ocorrem heterozigotos (Figura 18.20).

Analisando-se uma população segregante e obtendo-se o conjunto de marcadores, é necessário construir o mapa molecular com o auxílio de um software adequado, e um dos mais usados é o Mapmaker. Basicamente o que o programa faz é calcular as distâncias - frequências de recombinação - entre as centenas de marcadores que se obtêm. Com esses dados, os marcadores são colocados nos cromossomos da espécie, isto é, são mapeados.

Os mapas moleculares mais completos já existentes são para o milho, tomate e *Arabidopsis*. Esta última é uma das espécies vegetais mais usadas em genética molecular em razão do seu ciclo de vida ser extremamente curto, de 20 a 30 dias, agilizando a obtenção dos dados. A partir de 2500 primers foram colocados, por meio do RAPD, 100 marcadores somente no cromossomo 1 dessa espécie. Um exemplo de um mapa molecular está representado na Figura 18.21.

De posse do mapa, é necessário proceder a avaliação fenotípica da população segregante, com base nos caracteres de interesse, isto é, os caracteres cujos genes se deseja marcar. No caso de caracteres quantitativos, geralmente controlados por vários genes, cada unidade do genoma marcada é denominada de QTL (Quantitative Trait Loci). Cada QTL não significa necessariamente um poligene, pois, ele pode estar representado por mais de um intimamente ligado, ou um bloco gênico.

A avaliação fenotípica, especialmente dos caracteres quantitativos, deve ser feita da forma mais precisa possível, pois ela irá determinar a precisão de identificação dos QTLs pelos marcadores. Por isso, a população segregante deve ser avaliada em experimentos com repetição e, se possível em vários ambientes.



**FIGURA 18.20.** Eficiência dos marcadores em diferentes populações segregantes. Note que apenas o marcador dominante não é informativo em  $F_2$  quando o marcador está em repulsão em relação a outro marcador ou o alelo de interesse (Reiter et al., 1992).

Com o mapa molecular e a avaliação fenotípica da população segregante procede-se a identificação dos QTLs. Atualmente, existem vários pacotes estatísticos (softwares) que realizam essa identificação. O próprio Mapmaker já foi e continua sendo muito usado, entretanto, existem outros mais eficientes como o QTL Cartographer. A diferença básica desses dois pacotes é o método que eles utilizam. O Mapmaker utiliza o **método por intervalo**, que significa que o programa analisa para cada dois marcadores vizinhos ligados a existência de um QTL entre eles. Entretanto, pode haver QTLs próximos e fora desse intervalo, cujos efeitos afetam o valor do QTL identificado no intervalo. Já o Cartographer usa o **método do intervalo composto** eliminando essa deficiência. Além desses pacotes existem vários outros, entre eles o QMOL, de autoria do Prof. Cosme Damiano Cruz da Universidade Federal de Viçosa e que está disponível no site da universidade.

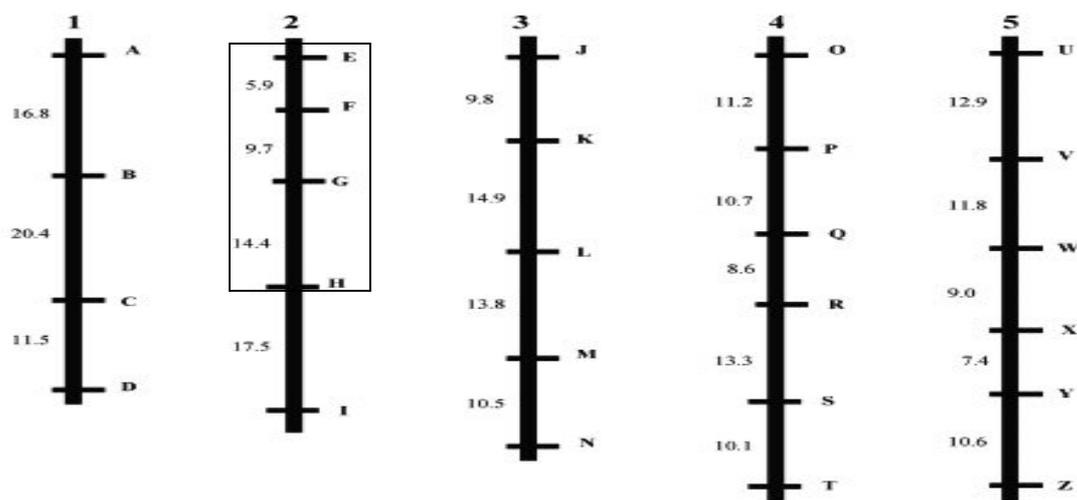


FIGURA 18.21. Mapa molecular de uma espécie hipotética com  $n=x=5$  cromossomos.

Além desses pacotes específicos, a identificação de QTLs também pode ser feita por meio da regressão linear múltipla, que utiliza vários procedimentos de seleção dos QTLs ligados aos marcadores e, um dos mais usados é o Stepwise. Vários pacotes estatísticos podem ser usados para esse fim como o SAS. Um exemplo da identificação de um QTL está representado na Figura 18.22, derivada da Figura 18.21 e um mapa molecular parcial de feijão está representado na Figura 18.23.

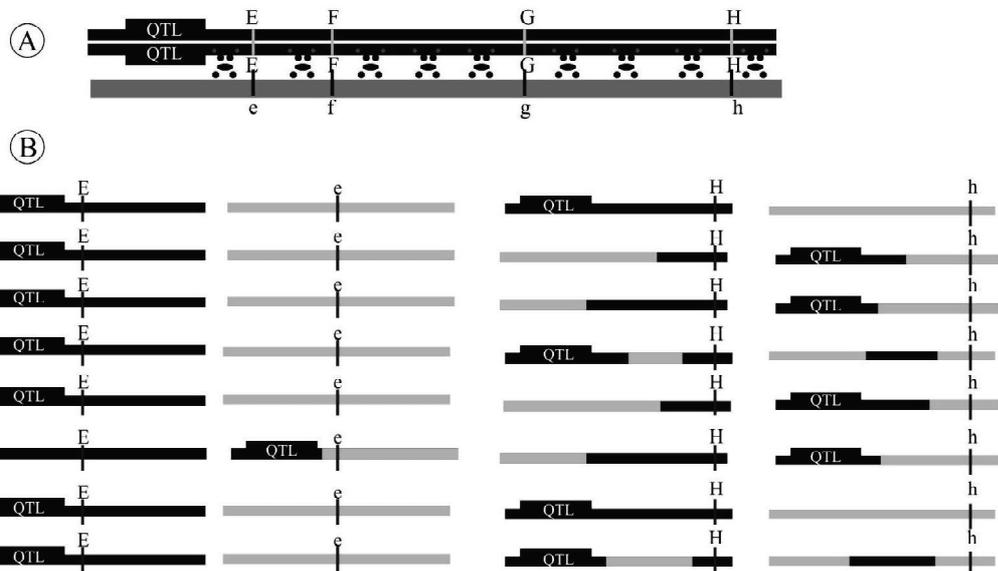


FIGURA 18.22. QTL fortemente ligado ao marcador E e fracamente ligado ao marcador H.

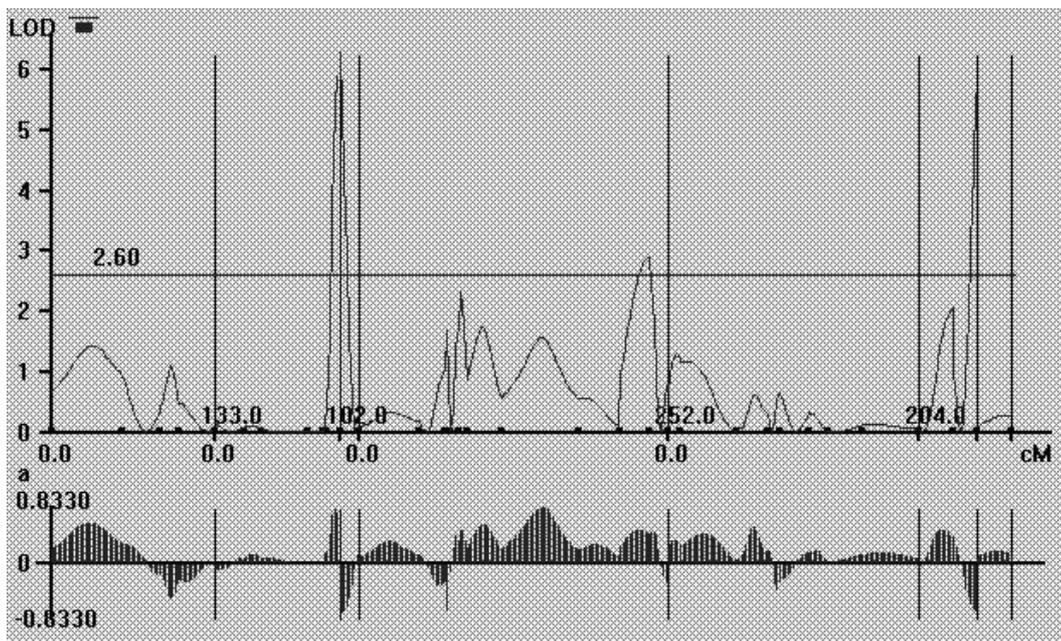


FIGURA 18.23. Identificação de quatro QTLs de feijão de resistência ao oídio, sendo dois para resistência e dois para suscetibilidade. Veja a linha de corte indicando a significância de seus efeitos e a direção dos mesmos na legenda abaixo do gráfico.

Atualmente, nova abordagem vem sendo feita para a construção de mapa molecular, denominada de mapeamento por associação. Esse procedimento dispensa o uso de populações derivadas de cruzamento como as mencionadas na Figura 18.20. Em vez disso, procura-se utilizar um grande número de marcadores polimórficos em uma população de indivíduos que podem ser linhagens ou cultivares. O uso de procedimentos estatísticos apropriados permite identificar um desequilíbrio de ligação nessa população e a realização do mapeamento.

#### 18.4.2.2 Identificação de QTL por meio da análise por ponto

Embora os procedimentos mencionados sejam os mais eficientes na identificação de QTLs, a **análise por ponto** foi a primeira utilizada e com ela fica mais fácil compreender o processo de identificação de um QTL. Como os caracteres quantitativos são medidos pela média e variância, pode-se ter idéia da participação do marcador para explicar o efeito do QTL medindo-se a variância genética do caráter explicada pelo marcador. Além disso, a variância genética pode ser aditiva e/ou dominante. Assim, o marcador pode também explicar essas duas variâncias.

Para se realizar a análise por ponto, após a genotipagem da população segregante com os marcadores, realiza-se uma análise de variância para cada marcador como indicado na Tabela 18.2. Nessa tabela, MM é o homozigoto para um dos alelos do marcador, mm é o homozigoto para o segundo alelo do marcador e Mm é o heterozigoto.

**TABELA 18.2.** Esquema geral da análise de variância entre genótipos de um marcador codominante(M), com a respectiva decomposição dos efeitos aditivo e dominante, baseada na avaliação de um caráter qualquer na  $F_2$ .

Fontes de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio (variância)
Genótipos	2	
Aditivo	1	$(MM - mm)^2/2$
Dominante	1	$[Mm - (MM + mm)]^2/2$
Erro	$N^0$ plantas $F_2 - 3$	
Total	$N^0$ plantas $F_2 - 1$	

Se o efeito de genótipos for significativo indica que há diferenças genéticas do caráter quantitativo explicada pelo marcador molecular. Tais diferenças podem ser decorrentes dos efeitos genéticos aditivos ou dominantes. Veja que o efeito aditivo corresponde a diferença entre a média de todas as plantas MM e a média de todas as plantas mm. Já o efeito de dominância é a diferença entre a média de todas as plantas Mm e a média dos homozigotos. É evidente que as médias dos genótipos dos marcadores referem-se ao caráter avaliado na

população segregante. Se para um loco marcador o efeito de genótipos for não significativo na análise de variância, implica que as médias de todos os genótipos do marcador são semelhantes, isto é:  $MM=Mm=mm$ . Isso acontece quando o marcador não está ligado aos QTLs do caráter avaliado. Veja o exemplo da análise por ponto, utilizando os dados hipotéticos da Tabela 18.3.

**TABELA 18.3.** Peso médio da semente de feijão de 40 plantas  $F_2$ .

PLANTA	GENÓTIPO	PESO (g)	PLANTA	GENÓTIPO	PESO (g)
1	MM	0.18	21	Mm	0.28
2	MM	0.20	22	Mm	0.26
3	MM	0.20	23	Mm	0.27
4	MM	0.21	24	Mm	0.26
5	MM	0.21	25	Mm	0.26
6	MM	0.18	26	Mm	0.27
7	MM	0.19	27	Mm	0.28
8	MM	0.21	28	Mm	0.30
9	MM	0.21	29	Mm	0.30
10	MM	0.19	30	Mm	0.28
11	Mm	0.28	31	Mm	0.35
12	Mm	0.30	32	Mm	0.38
13	Mm	0.29	33	Mm	0.36
14	Mm	0.29	34	Mm	0.35
15	Mm	0.30	35	Mm	0.38
16	Mm	0.28	36	Mm	0.36
17	Mm	0.31	37	Mm	0.36
18	Mm	0.28	38	Mm	0.37
19	Mm	0.26	39	Mm	0.37
20	Mm	0.31	40	Mm	0.36

Para se realizar a análise de variância fazem-se os seguintes cálculos em que  $\Sigma$  corresponde à soma:

$$\Sigma MM = 1,98; \Sigma MM/10 = 1,98/10 = 0,198; \Sigma Mm = 5,66; \Sigma Mm/20 = 5,66/20 = 0,283;$$

$$\Sigma mm = 3,64; \Sigma mm/10 = 3,64/10 = 0,364;$$

$$\Sigma MM + \Sigma Mm + \Sigma mm = 11,28; (\Sigma MM + \Sigma mm) = 5,62;$$

Genética na Agropecuária

Assim, a soma de quadrados (SQ) para total  $= (0,18)^2 + \dots + (0,36)^2 - (11,28)^2/40 = 0,1454$ ;

$SQ_{\text{genótipos}} = (1,98)^2/10 + (5,66)^2/20 + (3,64)^2/10 - (11,28)^2/40 = 0,13782$ ;

$SQ_{\text{Aditivo}} = (1,98)^2/10 + (3,64)^2/10 - (5,62)^2/20 = 0,13778$ ;

$SQ_{\text{Dominante}} = (5,66)^2/20 + (5,62)^2/20 - (11,28)^2/40 = 0,00004$ .

$SQ_{\text{resíduo}} = SQ_{\text{total}} - SQ_{\text{genótipos}} = 0,1454 - 0,13782 = 0,00758$

Com esses cálculos representam-se os resultados da análise de variância e realizam-se os testes F dos quadrados médios (QM) como indicados na Tabela 18.4, dividindo-se cada quadrado médio pelo resíduo. Nota-se que toda variação genética entre os pesos das sementes, explicada pelos diferentes genótipos dos marcadores, é decorrente do efeito genético aditivo. Portanto, o marcador **eme** está ligado ao caráter peso da semente, sendo que o alelo **M** do marcador identifica o alelo do QTL, responsável pelo menor peso da semente e o alelo **m** do marcador identifica o alelo do QTL responsável pelo maior peso.

Como a variação do caráter quantitativo é explicada pelo marcador em função de sua ligação com o QTL, quanto maior for a intensidade de ligação, maior será a variância entre os genótipos dos marcadores. Inversamente, quanto menor for a intensidade de ligação, menor será a variação entre os genótipos dos marcadores e maior será a variação entre indivíduos com o mesmo genótipo do marcador, considerando o caráter quantitativo.

**TABELA 18.4.** Resumo da análise de variância por ponto (marcador M) considerando o peso da semente do feijão.

FV	GL	SQ	QM	F
Genótipos	(2)	0,13782	0,0689	336,3**
Aditivo	1	0,13778	0,1378	672,6**
Dominante	1	0,00004	0,0000	
Resíduo	37	0,00758	0,0002	
Total	39	0,1454		

Como mencionado, a análise por ponto facilita o entendimento da identificação de marcadores ligados a QTLs, porém, é considerado um dos métodos mais falhos, pois, além do QTL que está sendo marcado, outros podem ocorrer próximos e afetar as médias dos genótipos marcadores, superestimando o efeito do QTL.

### 18.4.2.3 Eficiência da seleção assistida por marcador

Embora um enorme número de QTLs de vários caracteres e de várias espécies já tenha sido identificado por vários tipos de marcadores, são poucos os exemplos de uso desses marcadores para auxiliarem na seleção, isto é, a seleção assistida por marcadores (SAM). Isso tem acontecido porque a contribuição dos marcadores, na maioria dos casos, não tem sido aquela esperada para aumentar os ganhos com a seleção fenotípica.

Há alguns poucos exemplos onde se obteve ganho elevado com o uso de marcadores, como no estudo realizado por Stuber (1994) em milho. No trabalho, objetivou-se transferir QTLs para maior produtividade de híbridos de milho existentes em duas linhagens elites, a **Oh43** e a **Tx303** (Figura 18.24). Esses QTLs foram transferidos para melhorarem os híbridos derivados das linhagens **B73** e **Mo17**, de duas populações muito utilizadas nos Estados Unidos, pertencentes a grupos heteróticos diferentes. Para isso, as linhagens Oh43 e Tx303 foram cruzadas e, da  $F_2$  foram obtidas 216 progênies  $F_{2:3}$ . Essas foram genotipadas com RFLP e, simultaneamente, foram avaliadas por meio da produtividade de grãos, sendo identificados 6 QTLs de cada linhagem.

Para transferir esses QTLs para as linhagens B73 e Mo17, elas foram cruzadas com cada uma das 216 progênies  $F_{2:3}$  e foram realizados retrocruzamentos com esses dois genitores recorrentes até  $RC_3$ . Em  $RC_2$  foram identificadas as plantas que eram portadoras dos marcadores de QTLs desejados para serem cruzadas com os recorrentes e obter o  $RC_3$ . Cada planta  $RC_3$  foi autofecundada por duas gerações e obtiveram-se 141  $RC_3S_2$  com B73 e 116  $RC_3S_2$  com Mo17. Essas progênies foram denominadas de melhoradas. Em seguida, foram realizados os seguintes top crosses:

141 RC3S<sub>2</sub> x Mo 17 (testador)

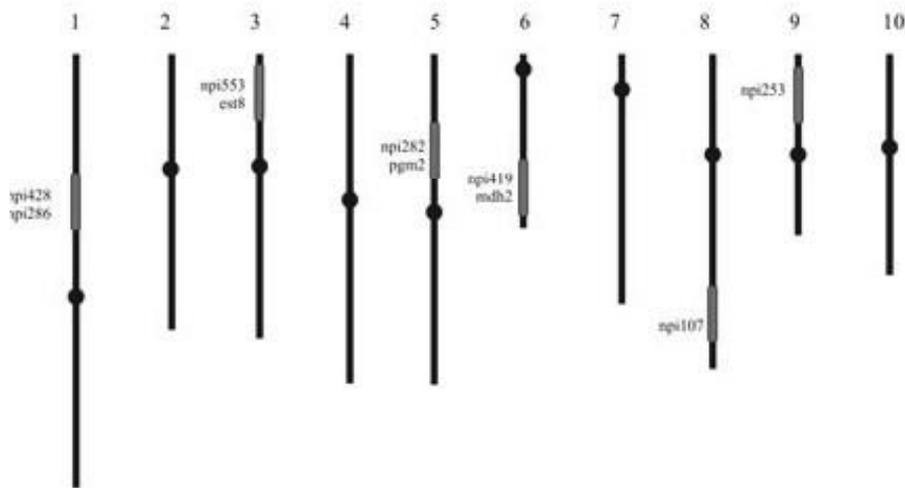
116 RC3S<sub>2</sub> x B73 (testador)



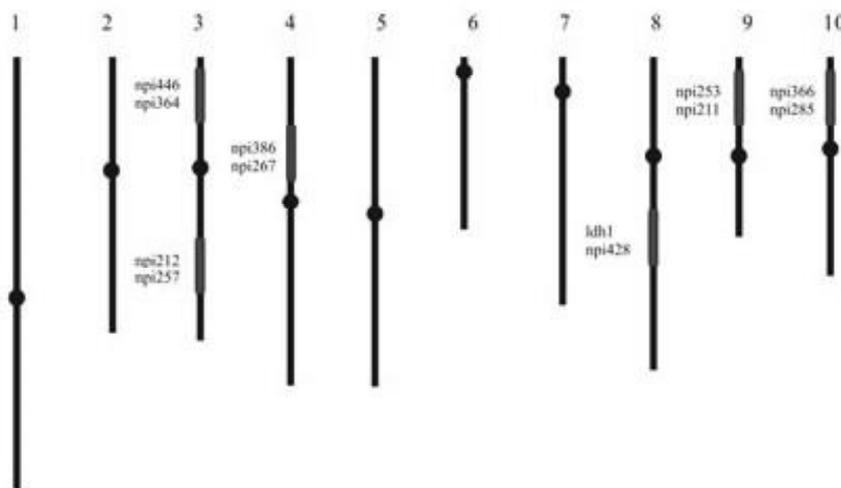
141 híbridos

116 híbridos

Tx303 para B73



Oh43 para Mo17



**FIGURA 18.24.** QTLs (retângulos nos cromossomos) para maior produtividade de grãos, identificados por marcadores RFLP, da linhagem Tx303 para transferir para a linhagem B73 em **a** e da linhagem Oh43 para a linhagem Mo17 em **b** (Stuber 1994).

A produtividade média de grãos dos 141 híbridos derivados do B73 melhorado foi 32% superior à produtividade do híbrido testemunha Mo17 x B73 não melhorado. Igualmente, a produtividade média dos 116 híbridos derivados do Mo17 melhorado foi 44% superior à produtividade do híbrido testemunha Mo17 x B73 não melhorado. Nota-se, nesse exemplo com milho, grande contribuição da seleção assistida por meio de marcadores de QTLs da produtividade de grãos. Entretanto, na maioria dos estudos os resultados não são favoráveis como nesse exemplo.

As principais razões para o insucesso do uso de seleção assistida por meio de marcadores de QTLs são, segundo Bernardo (2002): a. forte interação de QTLs por ambientes, isto é, um marcador identifica um QTL em um ambiente e não o identifica em outro; b. uso de populações pequenas que geram problemas na estimativa do número de QTLs e de seus efeitos; c. em geral os QTLs explicam uma porcentagem da variação fenotípica menor do que a variação genética do caráter. Esses problemas são ilustrados na Tabela 18.5 e nas Figuras 18.25 e 18.26.

**TABELA 18.5.** A maior porcentagem dos QTLs se expressa em apenas um ambiente.

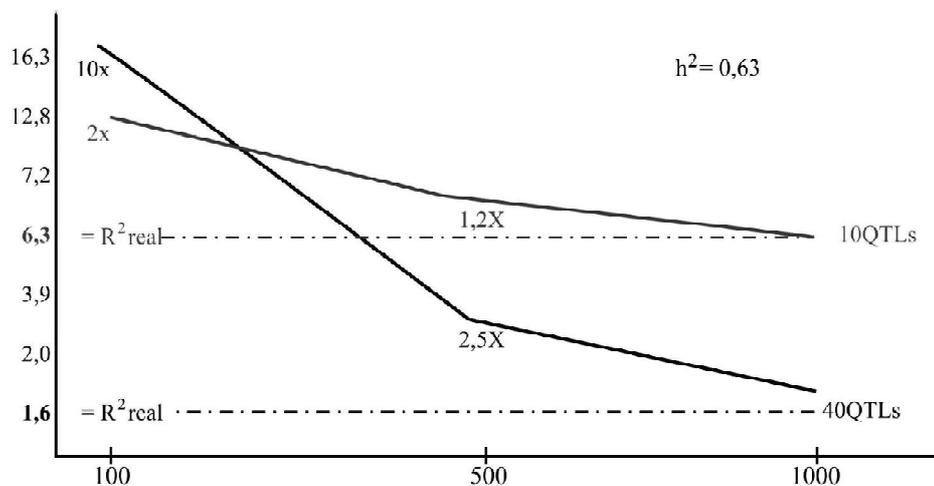
*Interação QTLs por ambientes*

**1. Milho: 476 topcrosses S<sub>2</sub>; 11 locais - EUA (Rumin 2005)**

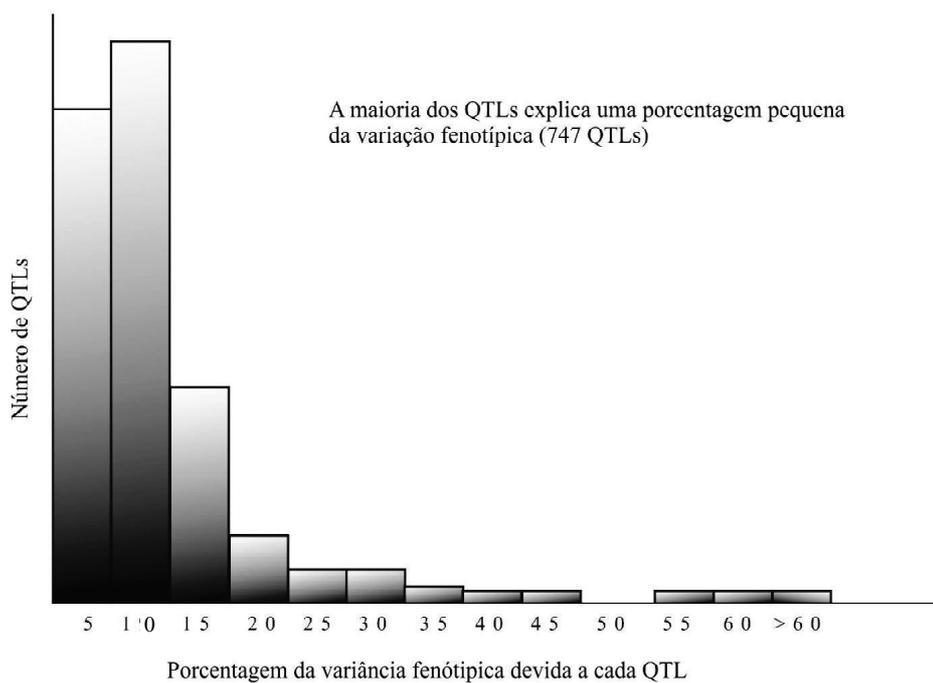
N <sup>o</sup> marcas	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	Total
Únicas	27	19	33	53	95
Amplas	8	8	9	5	34
Total	35	27	42	58	129
% únicas	77,1	70,4	78,6	91,4	73,6
% amplas	22,9	29,6	8,6	8,6	26,4

**2. Feijão: 336 linhagens; 15 ambientes – MG (Melo 2000 e Teixeira 2004)**

N <sup>o</sup> marcas	Produção de grãos		Peso 100 sementes	
	SSR	RAPD	SSR	RAPD
Únicas	9	15	6	12
Amplas	5	13	8	6
Total	14	28	14	18
% únicas	64,3	53,6	42,9	66,7
% amplas	35,7	46,4	57,1	33,3



**FIGURA 18.25.** Simulação da superestimativa do efeito do QTL na ordenada em função da complexidade do carácter (maior ou menor número de QTLs) e do tamanho da população na abcissa.



**FIGURA 18.26.** A maioria dos QTLs identificados em vários caracteres tem pequeno efeito (Bernardo 2002).

Em razão desses problemas, uma estratégia geralmente adotada na maioria dos programas de melhoramento é praticar a seleção assistida apenas para os QTLs de grande

efeito. Por exemplo, foi identificado um QTL por um marcador microsatélite que explica 70% da variação da resistência do feijão ao crestamento bacteriano.

#### 18.4.2.4 Ligação de marcadores a alelos específicos

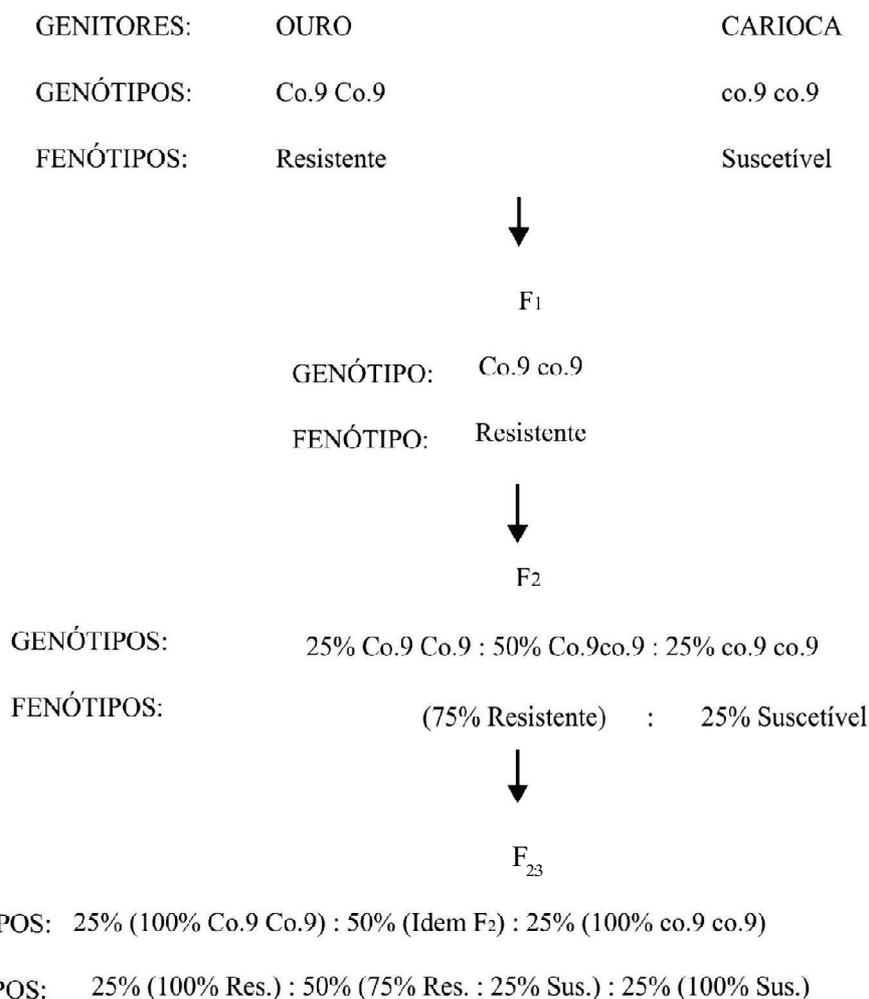
A construção de um mapa molecular saturado e, principalmente, a sua associação com os fenótipos é uma atividade cara, trabalhosa e que demanda muito tempo. Uma alternativa para os geneticistas e melhoristas, consiste em focalizar somente algumas regiões do genoma, identificando marcadores ligados apenas aos alelos de interesse. Isso acontece principalmente para caracteres monogênicos ou qualitativos e também os quantitativos que possuem um gene de grande efeito.

Com esse objetivo, o procedimento considerado mais eficiente é a análise de bulks segregantes, também denominado de BSA da expressão Bulk Segregant Analysis. Ele consiste em cruzar dois genitores contrastantes para o caráter de interesse. Por exemplo, na Universidade Federal de Lavras, foi utilizado o RAPD no feijão visando a identificar marcadores ligados a um alelo de resistência à *Colletotrichum lindemuthianum*, que é o agente causal da antracnose, uma das doenças mais importantes da cultura. Para isso, foi cruzada a cultivar Ouro, portadora do alelo dominante *Co.9* de resistência, com o genitor Carioca, que é suscetível. Foram obtidas as gerações  $F_1$  e  $F_2$  e as progênies  $F_{2,3}$  de plantas  $F_2$ . As progênies  $F_{2,3}$  têm a finalidade de identificar as plantas  $F_2$  homozigóticas e contrastantes para o caráter de interesse. Isto é, cada progênie  $F_{2,3}$  foi semeada em uma linha e foi inoculada com o patógeno. Foram encontrados três tipos de progênies: aquela com 100% das plantas resistentes, que indica que a progênie foi proveniente de uma planta  $F_2$  homozigótica para o alelo de resistência, que é dominante; aquela que segregou na proporção de 3 plantas resistentes e uma suscetível, que indica que a progênie foi proveniente de uma planta  $F_2$  heterozigótica; e aquela progênie 100% suscetível, porque foi descendente de uma planta  $F_2$  homozigótica para o alelo de suscetibilidade, que é recessivo (Figura 18.27).

Previamente, foi extraído o DNA dos genitores, da  $F_1$  e de cada planta  $F_2$ . Com o resultado de inoculação das progênies  $F_{2,3}$  foram identificados os DNAs das plantas  $F_2$  homozigóticas, tanto aquelas com o alelo dominante como aquelas com o recessivo. Os DNAs das plantas homozigóticas de cada alelo foram equitativamente misturados e foram então obtidos dois bulks de DNA, um proveniente das plantas homozigóticas com o alelo de resistência e outro proveniente das plantas homozigóticas com o alelo de suscetibilidade.

Teoricamente, espera-se que em cada bulk, homozigótico para o alelo de interesse, ocorra também homozigose para os segmentos de DNA que flanqueiam tal alelo. Evidentemente, nas demais regiões do DNA não ligadas ao gene de interesse, ocorre recombinação dos segmentos de DNA dos parentais, durante a formação da geração  $F_2$ , resultando na ocorrência dos mesmos nos dois bulks. Conseqüentemente, os bulks

diferem - são polimórficos - apenas para os marcadores ligados ao alelo de resistência ou de suscetibilidade e serão monomórficos para todas as outras regiões do genoma. O polimorfismo ocorre quando o marcador apresenta ligação completa com um dos alelos. Por exemplo, quando se utilizam os DNAs dos genitores, da F<sub>1</sub> e dos bulks, e os analisam por meio de um marcador, como o RAPD, por exemplo, pode-se obter um resultado como o que ocorre na Tabela 18.6.



**FIGURA 18.27.** Esquema do cruzamento visando a identificar as plantas F<sub>2</sub> homozigóticas a partir da inoculação das progênes F<sub>2,3</sub> provenientes de plantas F<sub>2</sub>.

Observa-se que o primer utilizado na análise de RAPD produziu três bandas polimórficas entre os genitores. Entre elas, a banda B foi também polimórfica nos dois bulks, indicando que ela corresponde a um fragmento de DNA que deve estar ligado ao alelo de resistência. As bandas A e C correspondem aos fragmentos situados distantes do alelo de resistência, ou

mesmo em cromossomos diferentes, pois recombinaram com os alelos de reação ao fungo e por isso ocorreram nas plantas homocigóticas resistentes e suscetíveis, isto é, nos dois bulks. Portanto, essas bandas não têm valor como marcador para o alelo de resistência.

Lembre-se que foram extraídos os DNA de todas as plantas  $F_2$ . Portanto, utilizando o primer que produziu o resultado apresentado na Tabela 18.6 e considerando apenas a banda B, pode-se estimar a frequência de recombinação entre o alelo responsável pela resistência e o marcador B. Para o cruzamento Ouro x Carioca, foi encontrado um marcador ligado ao alelo de resistência à *C. lindemuthianum*, como ilustra a Figura 18.28.

**TABELA 18.6.** Resultado hipotético dos genitores,  $F_1$  e dos dois bulks, analisados com RAPD, por meio do qual um primer produziu três marcadores (bandas) polimórficos nos genitores. O marcador B está ligado ao alelo de resistência presente no genitor 1, pois ele ocorreu apenas no bulk resistente. Já as bandas A e C são independentes do alelo de resistência, porque ocorreram nos dois bulks, em consequência das recombinações durante a produção da geração  $F_2$ .

Marcador	Genitor 1 (Ouro)	Genitor 2 (Carioca)	$F_1$	Bulk (Resistente)	Bulk (Suscetível)
A	■		■	■	■
B	■		■	■	
C		■	■	■	■

O marcador foi identificado por meio do primer OPF10 e a frequência de recombinação entre ele e o alelo *Co.9* de resistência foi de 11,10%, com erro padrão de 3,7%. Assim, pode-se fazer seleção de plantas resistentes, na geração  $F_2$ , por exemplo, por meio do marcador, sem a necessidade de inoculação. Como o marcador se encontra a 11,10 unidades de distância do alelo *Co.9*, cerca de 4,8% das plantas selecionadas com o marcador serão suscetíveis. Observa-se, na Figura 18.28, a presença do marcador nas plantas 22, 25 e 26, onde ele não era esperado, porque são plantas suscetíveis. Esses resultados inesperados acontecem porque o marcador está ligado ao alelo de resistência de forma incompleta, isto é, ocorreu permuta genética entre o marcador e o alelo de resistência, durante a produção dos gametas das plantas  $F_1$  que geraram as plantas  $F_2$ . A consequência dessa permuta foi a separação do marcador em relação ao alelo *Co.9* e a observação do mesmo em plantas suscetíveis ou a ausência nas resistentes.

A identificação de marcadores ligados a um dado alelo pode também ser realizada a partir do uso de retrocruzamento. Nesse caso as plantas da população segregante, como a

geração  $F_1$  de um retrocruzamento um ( $RC_1$ ), por exemplo, devem ser avaliadas para o caráter de interesse, com o fim de se construir os bulks segregantes de DNA. No caso de não se conseguir realizar uma avaliação eficiente em plantas individuais pode-se obter uma progênie  $F_2$  de cada planta  $F_1$ , isto é, realizar a avaliação na população de progênies  $F_{1,2}$  do  $RC_1$ .



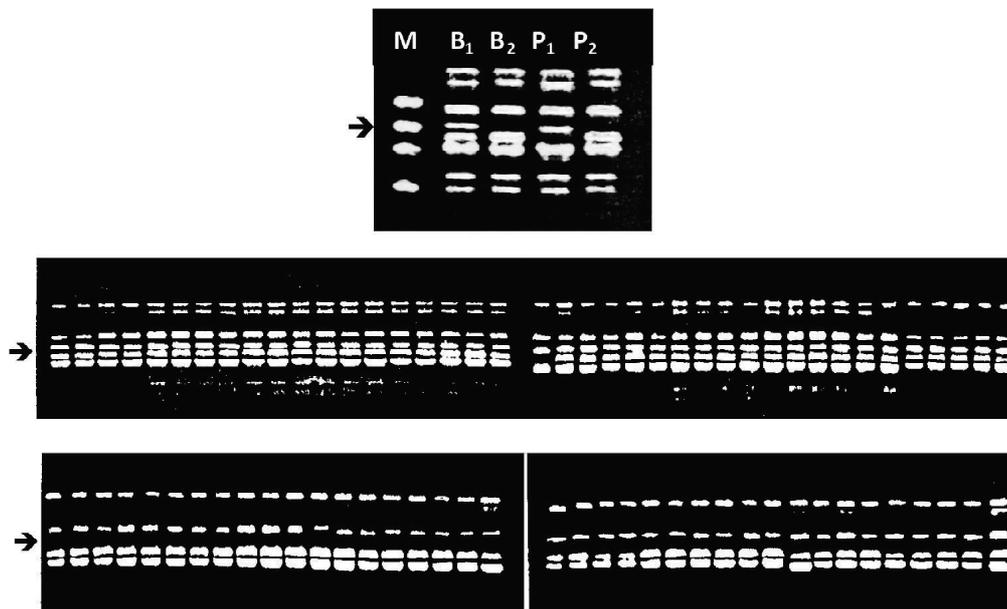
**FIGURA 18.28.** Análise RAPD dos componentes dos bulks resistente e suscetível, dos genitores e dos próprios bulks com o primer OPF10 - 5'GGAAGCTTGG 3'; a banda indicada pela seta está ligada ao alelo de resistência; genitor Carioca (Col. 1), Ouro (Col. 2), bulk resistente (Col. 3 e 15), bulk suscetível (Col. 4 e 16), plantas homocigóticas componentes do bulk resistente (col. 5 a 14) e plantas homocigóticas componentes do bulk suscetível (col. 17 a 28).

Utilizando esse procedimento, foi identificado um marcador RAPD amplificado pelo primer OPL04, com cerca de 1000 pares de bases (pb) ligado ao alelo de resistência *Co-4<sup>2</sup>* do feijão, contra o mesmo fungo *C. lindemuthianum*. Para isso, foi cruzado o genitor resistente G2333 com o suscetível ESAL 696 e a geração  $F_1$  foi novamente cruzada com o genitor suscetível (recorrente). Foi utilizado esse retrocruzamento porque o genitor resistente é uma linhagem não adaptada, isto é, possui muitos alelos desfavoráveis às condições de cultivo em Minas Gerais. Já, a linhagem ESAL 696 é muito mais favorável para o cultivo. Assim, na população de retrocruzamento obtida existem em média 75% de alelos da ESAL 696 e 25% de G2333 (Figura 18.29). Observa-se nessa figura o polimorfismo da banda indicada com uma seta nos dois genitores e também nos bulks. Além disso, observa-se que a banda ocorreu em todos os componentes do bulk resistente (figura do meio) e não ocorreu em nenhum componente do bulk suscetível (figura inferior). Portanto, não foram identificadas plantas recombinantes nos dois locos, o do gene de reação ao patógeno e do loco marcador. Essa é a situação ideal, pois, o marcador está muito próximo do alelo de resistência e implica em 100% de eficiência na seleção de plantas resistentes, em uma população segregante, por meio do marcador.

Entretanto, quando o marcador ideal encontrado é do tipo RAPD, como já mencionado, ele tem o problema de baixa repetibilidade. Para eliminar esse problema, realiza-se o isolamento do DNA apenas da banda ideal, a qual é clonada em um plasmídeo e, posteriormente, é sequenciada. A partir da sequência desenha-se um par de primers com cerca de 20 bases

para se amplificar essa banda com maior fidelidade. Isto é, transforma-se o RAPD em PCR. Esse procedimento é chamado de **SCAR**, que significa região amplificada de sequência caracterizada, como comentado no início desse capítulo.

Se houver permuta entre o marcador e o gene de interesse a banda aparecerá nos dois bulks, porém com diferentes intensidades. Quanto mais distantes forem o marcador e o gene, menos distintos serão os dois bulks até no ponto em que eles são independentes e a banda aparecerá com igual intensidade nos dois bulks. Entretanto, é importante utilizar-se um número adequado de indivíduos em cada bulk, pois, se o número for muito pequeno, há a possibilidade de se identificar polimorfismo nos bulks, mesmo se o marcador e o gene forem independentes. Nesse caso, Mackay e Caligari (2000) fornecem as expressões estimadoras das probabilidades de ocorrerem polimorfismo por acaso, em função do número de indivíduos do bulk de populações segregantes  $F_2$  ou do primeiro retrocruzamento ( $RC_1$ ) (Tabela 18.7). Observa-se que o polimorfismo por acaso pode ser evitado utilizando-se relativamente poucos indivíduos  $F_2$  como a partir de quatro. Porém, no caso de retrocruzamento é necessário utilizar pelo menos 10. Isso acontece porque uma  $F_2$  é uma população segregante proveniente de recombinações dos locos nos dois genitores, enquanto que no retrocruzamento, a recombinação que se expressa fenotipicamente ocorre somente no genitor  $F_1$ .



**FIGURA 18.29.** Padrão de bandas dos produtos de amplificação com o *primer* OPL04<sub>1000</sub> dos bulks resistente e suscetível (B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub>, respectivamente) e dos genitores G2333 e ESAL 696 (P<sub>1</sub> e P<sub>2</sub>, respectivamente) (figura superior), dos componentes do bulk resistente (figura do meio) e do bulk suscetível (figura de baixo). A seta indica a banda de 1000 pb, ligada ao alelo *Co-4<sup>2</sup>*, presente em B<sub>1</sub> e P<sub>1</sub> e nos componentes do bulk resistente. M é o marcador de tamanho de fragmentos de DNA.

Genética na Agropecuária

**TABELA 18.7.** Probabilidade (%) de identificar polimorfismo por acaso em função do número de genótipos (n) do bulk (Mackay e Caligari , 2000).

<b>n</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>10</b>	<b>Estimadores</b>
F <sub>2</sub>	0,80	0,20	0,05	0,0002	$2[1-(1/4)^n](1/4)^n$
RC <sub>1</sub>	11,72	6,05	3,08	0,20	$2[1-(1/2)^n](1/2)^n$

**PROBLEMAS PROPOSTOS**

1. Considere os fragmentos de DNA resultantes da digestão parcial de uma molécula com duas enzimas de restrição, a Eco RI e a Hae III, conforme representados no problema 5 do Capítulo 17.

a) Se as sequências reconhecidas pelas duas enzimas de restrição forem utilizadas como sonda para marcar os fragmentos, quais serão identificados por meio da técnica RFLP?

2. Em um programa de melhoramento de bovinos uma vaca(V) de alta qualidade deveria ser inseminada com sêmen de um touro ( $P_1$ ) para a produção de um híbrido. Entretanto, houve dúvida sobre uma possível mistura entre vários frascos de sêmen, no caso com os dos touros  $P_2$ ,  $P_3$  e  $P_4$ . Após obtido o descendente da vaca inseminada procurou-se identificar o verdadeiro pai por meio do RFLP. Os resultados de padrões de bandas de cada indivíduo estão representados a seguir:

Vaca		■		■	■	■			
Filho	■	■		■	■	■	■	■	■
$P_1$	■	■					■	■	■
$P_2$		■	■		■			■	
$P_3$		■		■			■		■
$P_4$		■	■	■		■		■	

Qual o provável pai do descendente? Justifique.

3. Em um programa de melhoramento de equinos, uma égua deveria ser cruzada com um garanhão A. Entretanto, dois outros garanhões (B e C) escaparam de suas baias e estiveram em contato com a égua, na época em que ela estava no cio. De posse do sêmen coletado da égua, visando a descobrir quem será o pai do descendente, foi realizada a análise de RFLP a partir do DNA de todos os animais envolvidos. Os resultados estão apresentados a seguir:

Égua		■	■			■			
Sêmen	■	■		■	■	■	■	■	■
Garanhão A	■	■		■	■	■	■	■	■
Garanhão B		■	■			■		■	
Garanhão C		■		■				■	■

O descendente a ser obtido será o esperado no programa de melhoramento? Justifique.

4. Foi realizado o cruzamento entre a cultivar de feijão Carioca (suscetível ao agente da antracnose) e a linhagem P45 (resistente). As plantas  $F_2$  foram inoculadas com a raça 89 do fungo patogênico e, simultaneamente, foram analisadas por meio do RAPD utilizando-se a técnica do bulk segregante. Foi identificado um marcador que possivelmente esteja ligado ao alelo de resistência. Os resultados obtidos estão na tabela seguinte:

Fenótipo	Número de plantas $F_2$
Resistente e com marcador	63
Resistente e sem marcador	4
Suscetível e com marcador	7
Suscetível e sem marcador	16

- a) Qual o controle genético da reação ao fungo e da presença/ausência do marcador?  
 b) Será que o marcador está ligado ao alelo de resistência? Justifique.  
 c) Qual a distância entre o marcador e alelo de resistência?

4. Foi realizado um estudo semelhante ao do exercício 4. Só que foi utilizado o cruzamento da cultivar Ouro (resistente) com a linhagem P24 (resistente). A segregação em  $F_2$  foi de 127 plantas resistentes e 9 suscetíveis. Qual o controle genético da reação do feijão ao patógeno?

Foram identificados dois marcadores RAPD, possivelmente ligados a um dos alelos de resistência. Um marcador é o amplificado pelo primer F e outro foi amplificado pelo primer R. As segregações observadas em  $F_2$  considerando: a. Reação e o fragmento de DNA amplificado pelo primer F; b. Reação e o fragmento de DNA amplificado pelo primer R, foram as seguintes:

a. REAÇÃO E PRIMER F		b. REAÇÃO E PRIMER R	
Fenótipos	Freq. observadas	Fenótipos	Freq. observadas
Resistente, com marca	111	Resistente, com marca	100
Resistente, sem marca	15	Resistente, sem marca	24
Suscetível, com marca	2	Suscetível, com marca	2
Suscetível, sem marca	9	Suscetível, sem marca	6

As frequências observadas em  $F_2$  considerando somente os dois marcadores foram as seguintes: 86 plantas com  $F^+R^+$ , 17 plantas com  $F^+R^-$ , 19 plantas com  $F^-R^+$  e 11 plantas com  $F^-R^-$ , onde o + significa a presença do marcador na planta e o – significa a ausência.

- a) Será que os marcadores F e R estão ligados, cada um a um alelo de resistência, ou os dois marcadores a um dos alelos de resistência? Justifique.
  - b) Comente sobre a utilidade desses dois marcadores para auxiliar na seleção de plantas resistentes em populações segregantes.
  - c) Em um estudo prévio foi constatado que o marcador amplificado pelo primer F está ligado ao alelo de resistência da cultivar Ouro. Assim, quais as conclusões sobre os resultados apresentados?
5. Como se sabe a quantidade de DNA nos genomas das plantas superiores varia de  $10^8$  a  $10^{11}$ , na maioria das espécies cultivadas. Foi realizado um estudo com AFLP, empregando-se um par de enzimas de restrição, uma que reconhece sequência de seis pares de base e a outra que reconhece sequência de quatro pares de base, para digerir o DNA de uma espécie com  $10^8$  pares de base no genoma e de outra espécie com  $10^{11}$  pares de base no genoma. O par de primers deve ser degenerado em quantas bases para amplificar cerca de 50 fragmentos de DNA em cada espécie?



# 19 REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA

## 19.1 INTRODUÇÃO

Quando estudamos as bases citológicas da herança, no Capítulo 4, vimos que, por meio da reprodução sexuada qualquer organismo eucarioto se origina a partir do zigoto, que possui todos os genes necessários para a expressão de todos os caracteres durante a sua vida. Vimos também que as células de todos os tecidos e órgãos são provenientes do zigoto por mitose, sendo, portanto, geneticamente idênticas. No entanto, cada tecido possui células com forma e funções particulares. Aparentemente, essa diversidade morfológica e fisiológica das células geneticamente idênticas é uma incoerência biológica. Tomando uma planta de milho como exemplo, qual é a explicação para que células geneticamente iguais produzam as células da raiz com funções de absorção de nutrientes, as células do caule com funções de sustentação e transporte de nutrientes, as células das folhas que fazem a fotossíntese e as células das flores com função reprodutiva? Perguntado de outra forma, qual é a causa para que células geneticamente iguais adquiram formas e funções diferentes? O que ocorre é que entre as células do corpo de um indivíduo, cada uma utiliza apenas algumas de suas informações, pois se utilizassem todas, elas seriam morfológica e funcionalmente semelhantes. Este fato é conhecido por **diferenciação celular**.

Podemos perguntar em seguida, como a diferenciação celular acontece? A resposta é que nem todos os genes se expressam em todas as células. Esses genes pertencem a dois grupos principais. O primeiro grupo corresponde aos genes que se expressam em todas as células e que são responsáveis por funções comuns, como os genes de rRNA, tRNA, das proteínas ribossômicas e de um grande número de enzimas, sendo, por isso, chamados de genes **constitutivos** ou “**domésticos**”. O segundo grupo corresponde aos genes responsáveis por funções específicas, que só se expressam em algumas células e apenas em certos momentos da vida do indivíduo, e são chamados de **induzidos ou específicos**. Por exemplo, nas folhas do milho, além dos genes constitutivos, estão funcionando também os genes responsáveis pela fotossíntese, que são específicos para os órgãos verdes e não se expressam em outros tecidos, como os da raiz. De modo análogo, os genes responsáveis pela meiose só se expressam no pendão e na boneca, durante um curtíssimo período da vida da planta e, portanto, também se enquadram na categoria de genes induzidos. Assim, nota-se que alguns genes não estão

funcionando em todas as células, isto é, esses genes estão desativados. Podemos então compreender a diferenciação celular, de uma forma muito simplificada, como o fato de diferentes genes expressarem-se em diferentes tecidos e em diferentes estágios de desenvolvimento do indivíduo, ou seja, é como se existisse um mecanismo semelhante a um interruptor e os genes em questão correspondessem às lâmpadas, ora ligados ora desligados.

Para entendermos diferenciação celular é necessário conhecermos quais são os fatores responsáveis pela ativação de alguns genes específicos e desativação de outros, nos vários tecidos e órgãos de um indivíduo. Tais fatores incluem desde os externos ao indivíduo, como luz, temperatura, até as várias proteínas que se associam ao DNA e induzem a transcrição de um dado alelo ou a sua desativação. Como a regulação da expressão gênica é muito mais complexa nos eucariotos, mais uma vez vamos comentar com mais detalhes como ela ocorre nos procariotos, nos quais ela é mais simples e melhor compreendida, para, em seguida, fazermos alguns comentários sobre a regulação naqueles organismos mais complexos.

## 19.2 PROCARIOTOS

Como já é conhecido, os procariotos são organismos unicelulares sem núcleo diferenciado. Apesar de serem muito mais simples do que os eucariotos, eles são semelhantes em relação aos dois grupos principais de genes, isto é, os “domésticos” e os específicos. Nos procariotos, os genes “domésticos” são os que se expressam em uma taxa relativamente constante, e são também chamados de constitutivos. Já os específicos, correspondem àqueles que só se expressam sob certas condições, visando a adaptar o organismo ao meio onde ele se encontra, e são chamados de induzidos. Esses últimos codificam proteínas e enzimas que variam acentuadamente em concentração e suas expressões são, portanto, reguladas.

Os genes mais conhecidos com expressões reguladas são de dois grupos. O primeiro corresponde aos responsáveis pela produção de enzimas, as quais permitem às bactérias obterem nutrientes e energia, como a utilização de lactose pela *E. coli*, e é referido como **sistema indutivo** ou **repressão catabólica**. O segundo grupo de genes produz as enzimas envolvidas na biossíntese de substâncias essenciais, como os aminoácidos, e é denominado de **via biossintética** ou **anabólica**.

### 19.2.1 Sistema Indutivo - O Uso da Lactose pela *Escherichia coli*

As primeiras evidências experimentais que elucidaram a regulação da expressão gênica foram obtidas por dois pesquisadores franceses, François Jacob e Jacques Monod, utilizando a bactéria *E. coli* e explicando a base bioquímica da utilização da lactose. Eles receberam o prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina, em 1965, como reconhecimento de suas descobertas. O grande mérito dessa descoberta deveu-se não somente ao entendimento do uso da lactose

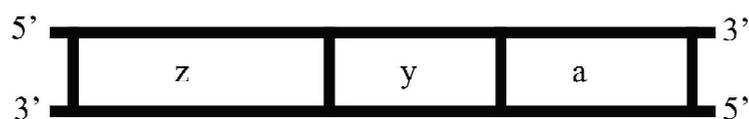
pela *E. coli*; mas, principalmente por ter despertado o interesse dos pesquisadores em explicar os processos gerais de regulação da expressão gênica em diversos sistemas biológicos.

Em seus trabalhos foi utilizada a bactéria *E. coli*, que, evidentemente, necessita de energia do meio de cultura para se desenvolver. Como qualquer organela biológica, ela é econômica, isto é, a bactéria utiliza a fonte energeticamente menos dispendiosa, no caso, a glicose. Se no meio de cultura existe a glicose e também outros carboidratos, ela será utilizada em primeiro lugar.

O trabalho desses autores consistiu em esclarecer como a *E. coli* utiliza o dissacarídeo lactose como fonte de energia. Para a bactéria usar esse carboidrato ela necessita produzir três enzimas, a  $\beta$ -galactosidase, a permease e a transacetilase. A  $\beta$ -galactosidase hidrolisa a lactose em dois monossacarídeos, a galactose e a glicose. A permease auxilia no transporte da lactose através da membrana da bactéria, no processo de absorção para o interior da célula. A transacetilase tem a função de transferir o grupo acetil da acetil co-enzima A para os  $\beta$ -galactosídeos.

Se houver disponibilidade de glicose no meio de cultura, como já comentado, a *E. coli* não precisa sintetizar as enzimas. É por essa razão que em um meio só com glicose, cada bactéria possui apenas cerca de dez moléculas de  $\beta$ -galactosidase. No entanto, se a bactéria é colocada em outro meio em que a lactose é a única fonte de carbono, o número de moléculas de  $\beta$ -galactosidase aumenta aceleradamente e chega a representar 10% das proteínas solúveis da bactéria. Juntamente com essa enzima, a permease e a transacetilase são também sintetizadas. Foi a observação desse comportamento da bactéria que levou os pesquisadores franceses a perguntarem como a *E. coli* é capaz de alterar bruscamente a concentração das três enzimas para permitir o uso da lactose?

A resposta foi obtida a partir de engenhosos experimentos realizados no final da década de 1950 e início da década de 1960, que mostraram que a  $\beta$ -galactosidase é codificada pelo alelo  $z^+$ , a permease pelo alelo  $y^+$  e a transacetilase pelo alelo  $a^+$ . O expoente + indica que o alelo é funcional, isto é, codifica uma cadeia polipeptídica. Já, o expoente - indica um alelo mutante e, em várias ocasiões, ele não é funcional, portanto, não produz uma cadeia polipeptídica. Foi constatado também que os três genes são mapeados juntos na ordem **z, y, a** e são denominados de **genes estruturais** (Figura 19.1). A descoberta dos três genes e a disposição deles no cromossomo bacteriano foi feita utilizando-se mutantes deficientes para uma das três enzimas, por exemplo, o  $z^- y^+ a^+$ , que não utilizava a lactose, porque não produzia a  $\beta$ -galactosidase.



**FIGURA 19.1.** Segmento do cromossomo (DNA) da *E. coli* com a disposição dos genes estruturais **z**, **y** e **a**, responsáveis pelo metabolismo da lactose.

Entretanto, a questão ainda não esclarecida era como os três alelos  $z^+$ ,  $y^+$  e  $a^+$  são induzidos a serem transcritos para formação das enzimas? O fato de as enzimas não serem sintetizadas na ausência da lactose levou os pesquisadores a imaginarem que alguma substância impedia a transcrição dos genes que as codificam. Tal suspeita foi esclarecida a partir da descoberta de um mutante que produzia as três enzimas necessárias para o uso da lactose, mesmo na ausência desse carboidrato, isto é, um mutante onde os genes responsáveis pelas três enzimas não estavam impedidos de serem transcritos. A partir do momento em que foi adicionado nesse mutante um plasmídeo com uma cópia não mutante dos genes da lactose, foi restabelecido o controle da produção das três enzimas, isto é, elas somente passaram a ser sintetizadas na presença da lactose. Portanto, o mutante realmente não produzia alguma substância cuja função era impedir a transcrição dos genes que codificam as três enzimas. É necessário esclarecer que a palavra **plasmídeo**, utilizada neste parágrafo, refere-se a um pequeno cromossomo bacteriano que, normalmente, contém um reduzido número de genes, nesse caso, os genes responsáveis pela utilização da lactose. Observe que o mutante, juntamente com o plasmídeo, transformou-se em uma bactéria semidiploide, pelo menos para os genes da lactose e, por isso, ela é chamada de **merozigoto**. No caso de um merozigoto ser heterozigótico, ele recebe o nome de **heterogenoto**.

Utilizando a bactéria mutante e também portadora do plasmídeo com os genes normais da lactose, portanto com duas cópias - alelos - desses genes, foi descoberto um **gene regulador** denominado **i**, que está situado antes do ponto de início da transcrição dos genes responsáveis pelas três enzimas, portanto, à montante ou à esquerda do gene **z**. Posteriormente, foi descoberto que o alelo  $i^+$  codifica a **proteína repressora**, cuja função é impedir a transcrição dos alelos  $z^+$ ,  $y^+$  e  $a^+$ .

Somente podemos entender a regulação da expressão dos genes estruturais se conhecermos como atua a proteína repressora. Para isso, descobriu-se também que entre os genes estruturais e o regulador existem dois sítios contíguos, o **sítio promotor - p** - e o **sítio operador - o** - (Figura 19.2a). O sítio promotor é o local onde se liga a RNA polimerase e o sítio operador é onde se liga a proteína repressora, na ausência de lactose no meio de cultura.

A proteína repressora possui alta afinidade pelo sítio operador, ocupando cerca de 24 pares de nucleotídeos do DNA, dos quais 8 são comuns ao sítio promotor. Portanto, se a bactéria está crescendo em um meio de cultura sem lactose, ela não transcreve os genes estruturais, simplesmente porque a proteína repressora bloqueia a passagem da RNA polimerase para transcrever os genes estruturais (Figura 19. 2b).

Quando a bactéria cresce em um meio só com lactose, esse carboidrato se combina com a proteína repressora inativando-a e, por essa razão, tal proteína perde afinidade pelo sítio operador. Simultaneamente, a RNA polimerase ligada no sítio promotor é liberada para

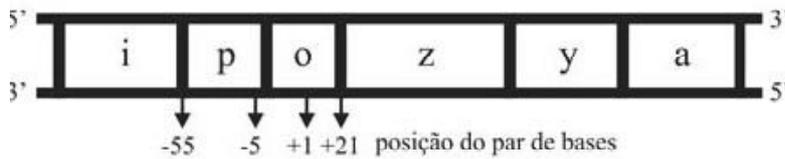
realizar a transcrição dos genes estruturais. Esses genes são transcritos em um único **mRNA policistrônico** - mRNA que possui sequências de alelos de vários genes intimamente ligados ou contíguos - que, após traduzido, resulta na produção das três enzimas que permitem a *E. coli* utilizar a lactose (Figura 19.2c). A lactose é, portanto, a **indutora** da expressão dos genes estruturais e, por essa razão, esse mecanismo de regulação é chamado de **sistema indutivo**.

Como já salientamos, a *E. coli* tem preferência pela glicose, por ser uma fonte de carbono que requer menos energia para sua utilização como, por exemplo, deixar de sintetizar as três enzimas do operon da lactose. Assim, em um meio de cultura onde ocorrem glicose e lactose, primeiro a bactéria utiliza a glicose, ao mesmo tempo em que reprime o operon da lactose. Vimos que a repressão do operon da lactose pode ocorrer quando esse carboidrato está ausente. No entanto, na presença de glicose e lactose, qual mecanismo de repressão estaria atuando, para permitir que a bactéria seja mais eficiente e utilize primeiro a glicose?

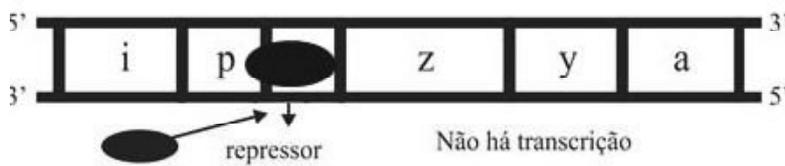
É necessário lembrar que a lactose presente no meio de cultura, inativa a proteína repressora proveniente do alelo  $i^+$ , não sendo, portanto, a causa de repressão do operon. Dessa forma, como se processa então essa nova regulação?

Constatou-se que a glicose participa do mecanismo de repressão, reduzindo a afinidade da RNA polimerase pelo sítio promotor do operon da lactose. Consequentemente, o operon não é transcrito. A atuação da glicose nesse mecanismo de regulação ficou conhecida após ter sido descoberto que o sítio **p** possui duas regiões. A primeira é o local onde se ligam dois cofatores de transcrição e a segunda, é o local onde se liga a RNA polimerase propriamente dita. Os dois cofatores são a proteína ativadora do catabolismo - **CAP** - e o monofosfato de adenosina cíclico - **AMPc**. A proteína CAP é o produto de outro gene regulador, o **crp**, que se situa distante do operon da lactose. O AMPc é proveniente do ATP. Esses dois cofatores se combinam e formam o composto CAP-AMPc que se liga ao sítio **p**, criando assim um ambiente químico com afinidade para a RNA polimerase se ligar (Figura 19.3). O papel da glicose, quando presente no meio de cultura, é reduzir a quantidade de AMPc e, consequentemente, o composto CAP-AMPc não se forma e a RNA polimerase não se liga no sítio **p**, reprimindo assim a síntese das enzimas que permitem o uso da lactose. Tal repressão permanece até que toda a glicose do meio de cultura seja utilizada pela bactéria.

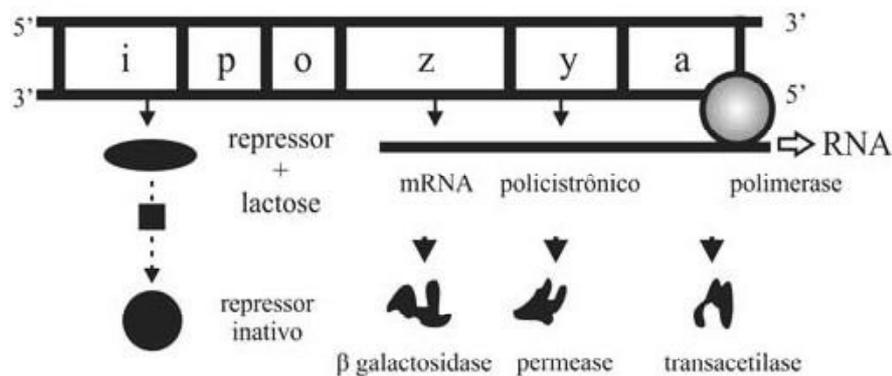
(A) Operon da Lactose



(B) Meio sem Lactose



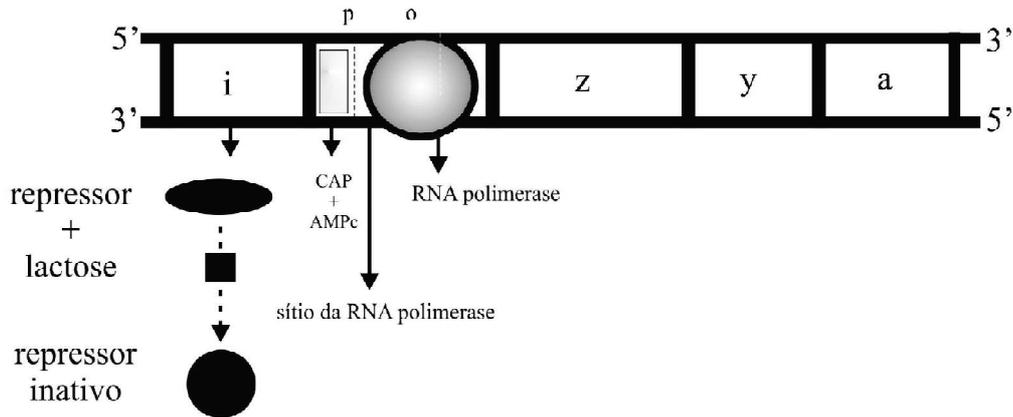
(C) Meio com Lactose



**FIGURA 19.2.** A. Operon da lactose que compreende os sítios **p** e **o** e os genes estruturais **z**, **y** e **a**. São indicados os pares de base que limitam os sítios **p** e **o**. O par de base +1 é o primeiro transcrito. O gene regulador **i** não é considerado parte do operon. B. Nas bactérias crescendo em meio de cultura sem lactose o operon está reprimido pela proteína repressora que se ligou ao DNA entre as posições -5 até +21, portanto, sobrepondo o sítio **p** e impedindo a passagem da RNA polimerase. Se as bactérias estão crescendo em um meio com lactose, o complexo repressor-lactose perde afinidade pelo sítio **o** e a RNA polimerase então é liberada para transcrever os genes estruturais, resultando na produção das três enzimas. mRNA policistrônico corresponde ao mRNA que possui uma cópia de alelos de dois ou mais genes diferentes, sendo de três genes no presente exemplo.

Considerando o que foi exposto, observa-se que a expressão dos genes do operon da lactose está sob dois mecanismos regulatórios. Um é aquele que inibe a transcrição dos genes estruturais por meio da proteína repressora codificada pelo alelo  $i^+$ . Em razão de esse

alelo ser responsável pela repressão do sistema ele é chamado de regulador negativo. O segundo mecanismo é responsável pela indução da transcrição dos genes estruturais, sendo, por isso, chamado de regulador positivo.



**FIGURA 19.3.** Operon da lactose com destaque do sítio **p** subdividido no sítio do CAP-AMPc e no sítio da RNA polimerase propriamente dita. O composto CAP-AMPc forma-se na ausência de glicose no meio e liga-se no sítio **p**, aumentando a sua afinidade para ligar-se com a RNA polimerase, promovendo a transcrição dos genes que permitem a utilização da lactose.

### 19.2.2 A Síntese de Triptofano em *Escherichia coli*

O triptofano é um aminoácido importante para a bactéria crescer no meio de cultura. Quando ele está presente no meio, a bactéria, evidentemente, utiliza aquele que está disponível. Entretanto, em meio de cultura sem triptofano, ele necessita ser sintetizado pela bactéria. Nesse caso ele é o produto final de uma via metabólica onde participam cinco enzimas. Tais enzimas são sintetizadas a partir dos cinco genes estruturais do operon do triptofano (Figura 19.4). Podemos constatar que o operon do triptofano é semelhante ao da lactose, isto é, ele possui os sítios promotor e operador seguido de cinco genes estruturais.



**FIGURA 19.4.** Operon do triptofano em *E. coli*. O sítio promotor é representado por **p** e o operador por **o**. Os cinco genes estruturais são representados por **E, D, C, B e A** e são transcritos em um mRNA policistrônico.

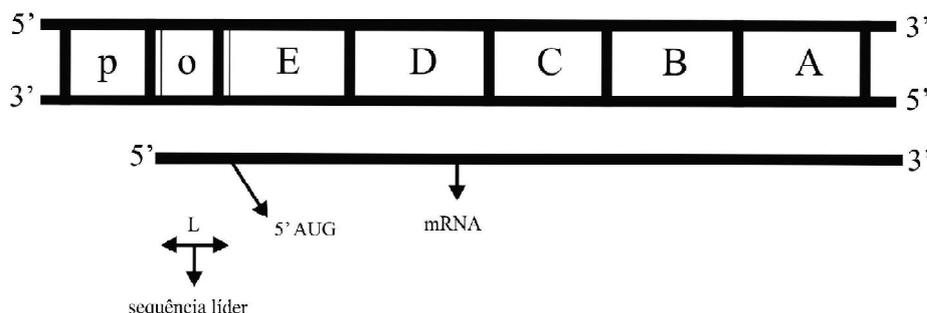
A concentração das enzimas da via metabólica do triptofano varia em uma amplitude de 700 vezes, quando a bactéria cresce em meio com ou sem triptofano. Tal variação é conseguida pela bactéria, para adaptar-se rapidamente em diferentes meios de cultura, por meio da regulação da expressão dos genes estruturais do operon.

Um dos processos de regulação consiste na atuação de uma proteína repressora, que é codificada pelo alelo regulador **trpR** e que está situado distante do operon do triptofano. No entanto, ao contrário do que ocorre com o operon da lactose, tal proteína somente funciona como repressora quando complexada com o triptofano, adquirindo assim afinidade pelo sítio operador. Por isso, esse processo é chamado de **regulação pelo produto final** e o triptofano é um **co-repressor**. Como o sítio operador sobrepõe o sítio promotor, o repressor - triptofano + proteína repressora - impede a ligação da RNA polimerase no sítio **p** e, consequentemente, não ocorre a transcrição dos genes estruturais.

De acordo com esse mecanismo de regulação, se a *E. coli* encontra-se em um meio sem triptofano, não ocorre a formação do repressor - triptofano + proteína repressora - e a RNA polimerase liga-se ao sítio **p**, promovendo a transcrição do operon que resulta na síntese de triptofano. Com o aumento do nível desse aminoácido no meio de cultura, ele se complexa com a proteína repressora e forma o repressor ativo, que reprime a transcrição e impede a síntese de triptofano.

Ocorre que apenas a regulação pelo produto final não proporciona o nível adequado de triptofano na célula, isto é, a *E. coli* sintetiza um excesso do aminoácido, quando em um meio de cultura sem triptofano, o que não é coerente com a economia dos sistemas biológicos. Para atender a esse requisito a evolução selecionou um segundo processo de regulação, que é executado pelo sítio **atenuador**. Tal sítio situa-se no operon, à jusante ou logo após o sítio **o** e dentro do segmento transcrito, que corresponde à **sequência líder** do mRNA policistrônico. Como foi comentado no capítulo 3, o mRNA é constituído de três partes transcritas, em sequência, que são as seguintes: a. a parte não traduzida, denominada de sequência líder e que se situa na extremidade 5' do mRNA; b. a parte traduzida em posição intermediária; c. e a terceira parte, também não traduzida, que se situa na extremidade 3'. Portanto, o sítio atenuador é parte do mRNA situado antes do ponto inicial - 5' AUG 3' - e próximo da extremidade 5' (Figura 19.5).

A sequência líder possui 162 nucleotídeos, dentro da qual ocorrem duas sequências de bases, uma rica em GC e outra rica em AU, que são muito semelhantes às sequências que determinam o final de transcrição do mRNA. Podemos então perguntar: Qual seria a função de um sítio de final de transcrição logo no início do mRNA transcrito?



**FIGURA 19.5.** Operon do triptofano em *E. coli* salientando a sequência líder, L, que é transcrita e faz parte da extremidade 5' do mRNA, antes do ponto inicial de tradução, o códon 5' AUG 3'. Dentro da sequência líder ocorre o sítio atenuador, a e que também participa da regulação da expressão dos genes estruturais E, D, C, B e A.

Como vimos, quando a quantidade de triptofano no meio é alta, o próprio triptofano combinado com a proteína repressora, impede a transcrição dos genes estruturais. Quando o nível de triptofano se reduz, esse mecanismo repressivo deixa de atuar. Porém, ocorre a transcrição do mRNA policistrônico completo, com 7.000 nucleotídeos, em apenas algumas bactérias e de uma pequena sequência do mRNA, com 130 nucleotídeos, em outras. Portanto, nessas bactérias está atuando o final de transcrição logo após seu início. Consequentemente, as bactérias que transcrevem somente esse pequeno mRNA, não sintetizam o triptofano. Assim, por que esse sítio de final de transcrição funciona em algumas bactérias e não funciona naquelas que produzem o mRNA policistrônico completo?

Foi constatado que em meios de cultura com níveis maiores de triptofano, a maioria das bactérias produz apenas o início do mRNA, com 130 nucleotídeos, portanto, não transcrevendo os genes estruturais e, consequentemente, não sintetizando mais moléculas de triptofano. Com a redução da quantidade de triptofano no meio, aumenta a proporção de bactérias que transcrevem o mRNA completo, aumentando, assim, a síntese de triptofano. Portanto, a concentração de triptofano no meio de cultura determina a proporção de bactérias que deve produzir o mRNA policistrônico e a proporção que deve transcrever apenas o início do mRNA. Essa conclusão nos leva a outra pergunta: Como a concentração de triptofano no meio de cultura realiza esse controle?

Para responder a essa pergunta, temos de lembrar que em procariotos já é conhecido há longo tempo que a transcrição e a tradução ocorrem simultaneamente, isto é, enquanto a RNA polimerase está transcrevendo um alelo, a parte do mRNA formado vem sendo traduzida. No caso do operon do triptofano, foi constatado que esse fato ocorre, só que a tradução se inicia na sequência líder. Como resultado da tradução dessa sequência é produzido um peptídeo de 14 aminoácidos.

Então, para elucidar esse segundo mecanismo de regulação, que é capaz de “medir” com maior precisão quando a bactéria deve iniciar ou parar a síntese de triptofano, foram

sequenciadas a parte da sequência líder que é traduzida, bem como o peptídeo de 14 aminoácidos (Figura 19.6). Observe que os aminoácidos de número 10 e 11 do peptídeo são dois triptofanos, exatamente o produto final da via metabólica em que participam as enzimas desse operon. Assim, a quantidade disponível de triptofano no meio de cultura, determina a tradução completa ou parcial da sequência líder. Essa tradução, por sua vez, irá determinar se o restante do operon será ou não transcrito, da seguinte forma: Se o triptofano estiver escasso no meio, no momento em que o ribossomo, traduzindo a sequência líder, atingir o códon 5' UGG 3', que codifica o triptofano, ele ficará emperrado, em razão da falta do aminoácido. Esse fato ocasiona a formação de uma estrutura secundária na sequência do mRNA já transcrito, e permite que a RNA polimerase continue a transcrição de todos os genes estruturais. Em consequência, será produzido triptofano pela via metabólica e aumentará sua concentração no meio. O aumento da quantidade de triptofano no meio, por outro lado, impedirá que o ribossomo fique emperrado, e a sequência líder será traduzida completamente. A tradução completa dessa sequência ocasiona uma mudança na estrutura secundária do segmento do mRNA já transcrito - sítio de término de transcrição - e tal estrutura impede que a RNA polimerase continue a transcrição, parando, assim, a produção de triptofano em excesso para a bactéria (Figura 19.7). Por isso, a parte da sequência líder envolvida na regulação é chamada de **atenuador**.

Parte da Sequência Líder do mRNA

..5' AUG AAA GCA AUU UUC GUA CUG AAA GGU **UGG UGG** CGC ACU UCC UGA 3'..

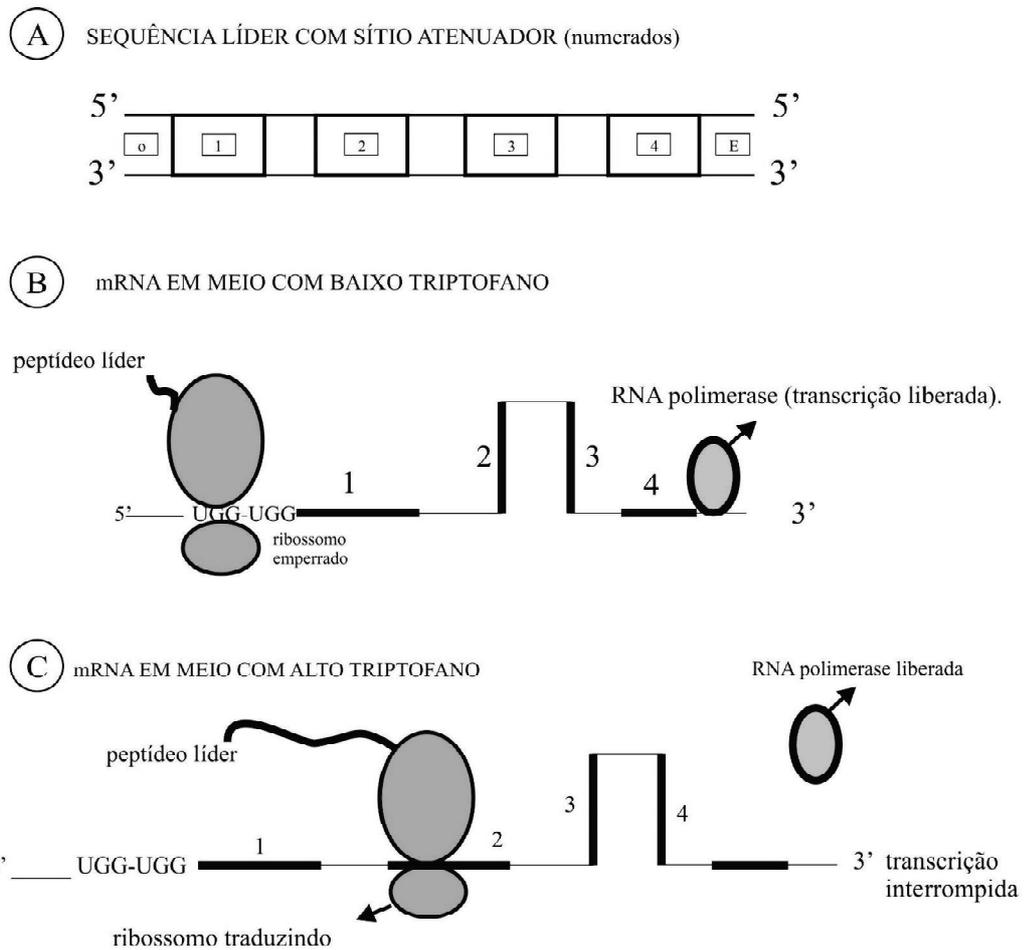


Met-Lys-Ala-Ile-Phe-Val-Leu-Lys-Gly-**Trp-Trp**-Arg-Thr-Ser

peptídeo da sequência líder

**FIGURA 19.6.** Parte da sequência líder do mRNA policistrônico que é traduzida para regular a expressão dos genes estruturais.

Vê-se assim, que a regulação da produção de triptofano em *E. coli* pelo atenuador é um processo engenhoso e capaz de “medir” a concentração do aminoácido no meio. Essa percepção é rigorosa e habilita a bactéria dosar a concentração ideal do triptofano. Tal mecanismo exemplifica o papel da regulação da expressão gênica para aumentar a eficiência e economia biológicas na exploração dos recursos do meio.



**FIGURA 19.7.** Regulação da síntese de triptofano em *E. coli* pelo sítio atenuador. **A.** A sequência líder, incluindo o sítio atenuador (retângulos), é subdividida em quatro segmentos. **B.** No meio de cultura com baixa concentração de triptofano, o ribossomo fica emperrado no segmento 1, pela falta de Trp, impedindo a tradução dos dois códons 5' UGG 3'. Em consequência ocorre o pareamento dos segmentos 2 e 3, e a RNA polimerase, que se encontra no segmento 4, continua transcrevendo o operon. O resultado é a formação do mRNA policistrônico completo, que leva à síntese de triptofano. Tal síntese ocorre, provavelmente, por meio de outro ribossomo, uma vez que o primeiro está emperrado no segmento 1. **C.** No meio de cultura com alta concentração de triptofano, o ribossomo traduz o peptídeo líder completo, com 14 aminoácidos, até parte do segmento 2. Por isso, ocorre o pareamento dos segmentos 3 e 4, e desloca a RNA polimerase que encontrava-se no segmento 4, resultando no fim da transcrição do operon.

A regulação pelo atenuador é um fenômeno comum na síntese de alguns aminoácidos em procaríotos. A sequência líder do mRNA policistrônico da histidina possui sete códons em fila do aminoácido, e a do mRNA policistrônico da fenilalanina possui uma sequência de códons que é traduzida em Phe-Phe-Phe-Ala-Phe-Phe-Tyr-Phe. Portanto, também na

síntese desses aminoácidos a percepção de suas concentrações no meio, determina a transcrição ou não de seus operons.

### 19.3 EUCARIOTOS

Como já salientamos, a completa regulação da expressão gênica em eucariotos só será conhecida quando todos os passos que resultam na diferenciação celular também forem compreendidos. Tal regulação é muito mais complexa do que em procariotos. Entretanto, a regulação em procariotos é plenamente conhecida em diversas vias metabólicas, como os mencionados operons da lactose e do triptofano e, por essa razão, elas servem como ponto de referência para facilitar o entendimento da regulação nos eucariotos.

Para se ter idéia da maior complexidade dos eucariotos, basta comparar os dois organismos. Por exemplo, os eucariotos possuem uma quantidade acentuadamente maior de DNA, cerca de 500 a 1000 vezes mais do que a *E. coli*. Isso significa, por exemplo, que eles possuem mais sequências de DNA que funcionam como sítios regulatórios, uma vez que o aumento do número de genes nos eucariotos em comparação com os procariotos é, proporcionalmente, muito menor do que o aumento da quantidade de DNA (Capítulo 3). Além disso, o DNA eucarioto encontra-se complexado com proteínas, formando os cromossomos que ocorrem no núcleo. Portanto, além de as informações genéticas estarem complexadas com as proteínas da cromatina, elas são transcritas no núcleo, ficando então separadas do local onde ocorre a síntese protéica, que é o citoplasma.

Adicionalmente, sabemos que maioria do RNA transcrito possui sequências que não são traduzidas, os **íntrons**, que necessitam ser retirados para produzir o RNA funcional como o mRNA. Finalmente, em razão da maioria dos eucariotos serem multicelulares, os genes com expressões específicas, portanto, os regulados, somente se expressam nos tecidos específicos de cada órgão, onde são induzidos por fatores ambientais externos e internos ao indivíduo. Já, os genes constitutivos, que se expressão em todas as células, também são regulados para expressarem em taxas ideais, como é o caso de genes para as proteínas ribossômicas.

Apesar da maior complexidade dos eucariotos, muitos trabalhos vêm sendo desenvolvidos sobre o assunto, e vários pontos já estão sendo elucidados. Esses pontos são identificados por meio de pesquisas que estudam desde as condições em que a informação hereditária contida no DNA é liberada ou reprimida, até nas alterações das proteínas ou enzimas formadas após a tradução. Esses vários pontos constituem os vários locais na célula e etapas onde pode haver um controle da expressão gênica, e são conhecidos como **níveis de regulação**.

#### 19.3.1 Níveis de Regulação

Retornando ao exemplo do milho, sabemos que no zigoto, os genes responsáveis pela fotossíntese estão reprimidos. Quando uma semente de milho germina, o embrião proveniente

do zigoto, por mitose, irá produzir a parte aérea da planta onde os genes da fotossíntese irão se expressar nas partes verdes. Podemos então perguntar: O que é necessário para esses genes se expressarem? De uma forma geral podemos afirmar que, inicialmente, eles devem ser expostos, porque estavam complexados com as histonas nos cromossomos. Para isso, ocorre a influência de fatores externos e, entre eles, sabemos que a luz é essencial. Após a transcrição dos genes em pré-mRNAs, eles são processados formando os mRNAs e são transportados para o citoplasma, onde são traduzidos. Os polipeptídeos formados são também processados até chegarem aos cloroplastos, onde vão realizar a fotossíntese. Esse exemplo ilustra de uma forma muito simples as várias etapas que ocorrem para a expressão dos genes da fotossíntese. Portanto, uma forma de facilitar o entendimento da regulação consiste em compreender os mecanismos que atuam nos diferentes estágios que afetam a expressão gênica. Assim, para os genes regulados em eucariotos, as várias etapas que levam à expressão, são em geral classificadas pelos seguintes níveis de regulação: a) Estrutura da cromatina e rearranjo do DNA; b) Controle da transcrição; c) Processamento de transcritos primários para formar o RNA funcional; d) Controle da tradução; e) Controle após a tradução.

### 19.3.1.1 Estrutura da cromatina e rearranjo do DNA

Em razão do DNA estar complexado com histonas para formar a cromatina, como nos nucleossomos, como visto no capítulo 2, e também a outras proteínas, em geral elas dificultam ou impedem a ligação de fatores de transcrição, que também são proteínas, no DNA e diminuem ou reprimem a expressão gênica. Essa repressão ocorre principalmente nos sítios promotores, embora a associação de grande quantidade de proteínas na cromatina leve à formação de cromatina mais condensada, a heterocromatina, em grandes extensões ou em todo o cromossomo e causa a repressão de vários genes.

A expressão gênica, em geral, ocorre na eucromatina, que está parcialmente condensada. Mesmo assim, é necessário que ela altere sua estrutura para que os fatores de transcrição tenham acesso aos sítios do DNA. Essa alteração é realizada por meio de um processo ativo de remodelamento da cromatina, especialmente no sítio promotor, que consta da retirada de alguns nucleossomos ou o reposicionamento dos mesmos, liberando os sítios do DNA para ligação dos fatores de transcrição. Esse remodelamento é realizado por um complexo enzimático de remodelamento da cromatina.

A atuação do complexo de remodelamento em geral promove a acetilação das histonas para tornar a cromatina ativa ou a metilação para torná-la inativa. Portanto, a acetilação torna a cromatina menos condensada, especialmente no sítio promotor. Quem realiza a acetilação é a acetilase e que pode ter a sua ação induzida por alguns ativadores de transcrição. Nesse caso, a acetilase é considerada um coativador. Por outro lado, a retirada do grupo acetil de

histonas, a desacetilação, é realizada por desacetilase que induz a formação de heterocromatina e reprime a expressão gênica. Aliada a desacetilação, também ocorre a metilação ou adição do radical metil, por meio das metilases, tanto nas histonas quanto no próprio DNA e causam também a repressão gênica. Quando a metilação ocorre no DNA, ela se dá principalmente nas bases G e C do sítio promotor, tornando a cromatina mais condensada.

Em geral, uma sequência de eventos que ocorrem para a ativação gênica são: a. fatores de transcrição ligam-se em sequências específicas no DNA e recruta o complexo de remodelamento da cromatina; b. esse complexo altera a estrutura da cromatina, retirando ou reposicionando alguns nucleossomos; c. em seguida ocorre a acetilação de histonas ficando a cromatina ativa para que a expressão gênica ocorra.

Além da participação da estrutura da cromatina na regulação da expressão gênica, em eucariotos, como os animais de sangue quente, há um processo de criação de novos alelos e até mesmo genes. Um exemplo bem ilustrativo é a capacidade de produzir anticorpos, as imunoglobulinas, para reagirem contra uma infinidade de antígenos que os atinge, como estudado no Capítulo 8. Como o número de anticorpos diferentes, necessários durante a vida de um organismo é extremamente grande, um mecanismo que eles usam é a criação de novos alelos para anticorpos. O anticorpo é constituído, em geral, por quatro cadeias polipeptídicas, duas pequenas e duas grandes (capítulo 8). Cada uma das quatro cadeias possui duas partes, uma variável e outra invariável. A variável corresponde ao segmento que varia por recombinação de várias sequências de DNA, cada qual correspondendo, em geral, a um éxon diferente. Além da recombinação, nessa porção do DNA em geral ocorre também alta taxa de mutação. Em consequência dessa recombinação e mutação, os animais são capazes de produzir anticorpos para praticamente todos os tipos de antígenos.

### 19.3.1.2. Controle da transcrição

Há um consenso de que o processo principal de regulação da expressão gênica em eucariotos atua durante a transcrição, que inclui toda a síntese de RNA a partir do DNA. Em eucariotos, o DNA nuclear é transcrito por três tipos de RNA polimerase; a I, a II e a III. A RNA polimerase I transcreve genes para rRNA e atua junto ao nucléolo. A RNA polimerase III sintetiza RNAs pequenos incluindo os tRNAs. A RNA polimerase II transcreve os genes que codificam para a síntese das cadeias polipeptídicas. O produto de sua transcrição é o pré-mRNA, que é processado para formar o mRNA, cada um, em geral monocistrônico, é responsável por uma cadeia polipeptídica. Neste tópico, será tratada apenas a regulação da expressão dos genes que codificam para cadeias polipeptídicas. Porém, antes, é necessário entender com mais detalhe o mecanismo envolvido com a transcrição e, principalmente, o seu início.

Para ocorrer a transcrição de um alelo são necessárias duas classes de fatores, os **CIS** e os **TRANS**. Os fatores CIS são segmentos de DNA e incluem o sítio promotor e as

sequências estimuladoras, também conhecidas como 'enhancers'. O sítio promotor é constituído por várias sequências conservadas que ocorrem à montante (antes) do alelo a ser transcrito e engloba uma região com mais de 200 pares de nucleotídeos, que são fundamentais para que ocorra a transcrição. Os 'enhancers' são similares ao sítio promotor, porém, localizam-se à grande distância, até 10.000 pares de nucleotídeos, à montante ou à jusante (após) do alelo a ser transcrito, e estão envolvidos na regulação da expressão no tempo e no espaço, isto é, em tecidos ou épocas específicas da vida do indivíduo.

Fator TRANS ou fator de transcrição é qualquer proteína necessária para que ocorra o início da transcrição. Além desses fatores, a RNA polimerase II é quem realiza a transcrição. A principal diferença entre a transcrição de procarioto e eucarioto é que no primeiro a RNA polimerase, além de ser única, liga-se diretamente no sítio promotor para realizar a transcrição. Nos eucariotos, os fatores de transcrição são os primeiros a reconhecerem as várias sequências conservadas do sítio promotor, criando um ambiente com afinidade para a RNA polimerase II se ligar. Essa RNA polimerase sozinha não consegue se ligar no sítio promotor para realizar a transcrição. Após o início da transcrição, a maioria dos seus fatores é liberada. O conjunto de fatores TRANS é chamado de complexo basal que inclui, na maioria das vezes, os fatores de transcrição  $TF_{II}D$ ,  $TF_{II}A$ ,  $TF_{II}B$ ,  $TF_{II}E$ ,  $TF_{II}F$ ,  $TF_{II}H$  e  $TF_{II}J$ . Só para se ter uma idéia desse complexo, o  $TF_{II}D$  é constituído de uma proteína (TBP) que liga-se no sítio TATA presente no promotor e mais 11 cadeias polipeptídicas auxiliares. Os demais  $TF_{II}$  são também constituídos de várias cadeias polipeptídicas e que se ligam próximas e, principalmente, à jusante do  $TF_{II}D$ . O  $TF_{II}D$  é o responsável direto para reconhecer o sítio promotor e posicionar nele a RNA polimerase II.

Dá para notar que o  $TF_{II}D$  é um dos que se destaca para viabilizar o início da transcrição. Para entendermos a sua participação é fundamental conhecermos o fator CIS TATA. TATA é uma simplificação da sequência TATAAATATAT, na cadeia senso do DNA, situada na posição -25, isto é, sua posição mediana corresponde ao 25<sup>o</sup> nucleotídeo à montante do primeiro transcrito. O sítio TATA é ladeado por sequências ricas em GC, onde, em muitos genes, ocorrem metilações que inibem ou reprimem a expressão gênica. É importante mencionar que em vários genes não ocorre o sítio TATA, que é substituído por outro sítio mais à jusante em torno de +30.

O  $TF_{II}D$  além de reconhecer o sítio TATA, também reconhece o sítio Inr (Iniciador) e sua sequência na maioria dos promotores é  $Py_2CAPy_5$ , que se estende a partir de -3. Por isso que a grande maioria dos pré-mRNAs inicia-se com A. Nessa sequência, Py é uma pirimidina, T ou C, e o índice 2 corresponde a dois desses nucleotídeos. Portanto, essas duas sequências são as necessárias para que a transcrição de um alelo possa se iniciar em nível baixo. Várias outras sequências CIS fazem parte do promotor e posicionam-se mais à montante, em torno de -100, onde se ligam os fatores de transcrição denominados de

**ativadores**, que aumentam a eficiência de transcrição. Exemplos de algumas dessas sequências CIS são a **5' CCAAT 3'** situada a cerca de -80 e a **5' GGCGGG 3'**, comumente chamada de sítio **GC**, e que ocorre em torno de -90.

Nas sequências estimuladoras também ligam-se fatores de transcrição. Como essas sequências estão situadas mais distantes do promotor, nelas ligam-se ativadores que interferem na transcrição por meio da participação de outras proteínas, chamadas de **coativadores**, que fazem contato com os ativadores ou mesmo com o complexo basal do sítio promotor. Esses coativadores não se ligam no DNA.

A regulação da expressão gênica se dá por meio da ligação de várias moléculas nos ativadores, denominadas de ligantes e que ativam ou reprimem a expressão gênica. Isso ocorre porque nem sempre os ativadores são funcionais. Eles somente se tornam ativados após a ligação dos ligantes. Uma classe de ligante muito conhecida são os hormônios. Por exemplo, em animais, os hormônios esteróides estão envolvidos com a regulação do desenvolvimento de tecidos e crescimento do corpo. Eles são os ligantes dos ativadores que são receptores de esteróides. Em plantas, vários hormônios realizam atividades similares. Esses hormônios, em geral, são moléculas pequenas que ligam-se nos ativadores, isto é, nos receptores de hormônios, e ativam a transcrição. Na ausência do hormônio o ativador fica ligado geralmente a uma molécula repressora da expressão gênica. Diz-se, então, que o ativador está inativo. Já, a presença do hormônio retira o repressor e o substitui no ativador, ativando-o.

Uma classe de proteínas envolvida com a regulação do desenvolvimento da maioria dos eucariotos são as proteínas com homeodomínio. Esse homeodomínio é uma sequência com 60 aminoácidos, conservada em várias proteínas regulatórias, e é a sequência responsável para reconhecer o sítio do DNA aonde a proteína ativadora ou repressora irá se ligar. As proteínas com homeodomínios são codificadas por genes homeóticos, os quais, evidentemente, têm a sequência que codifica para o domínio conservado de 60 aminoácidos e que é denominada de homeobox. Após a proteína ativadora ou repressora ligar-se no sítio correspondente no promotor ou nas sequências estimuladoras, ela irá interagir com o complexo basal, diretamente ou com a participação de coativadores.

Outros ativadores têm sítios conservados de reconhecimento do DNA. Entre eles estão as proteínas HLH (de Helix-Loop-Helix), que são sequências de 40-50 aminoácidos que criam uma estrutura com afinidade para o ativador ligar-se no sítio do DNA. As proteínas HLH variam suas sequências e regulam a expressão tanto de genes constitutivos, quanto daqueles com expressão em tecidos específicos. Outra classe de ativadores possui o domínio chamado de zíper de leucina, que é um segmento de aminoácido rico em leucina. Esse zíper tem a função de formar um dímero da proteína ativadora para que ela possa se ligar no sítio do DNA.

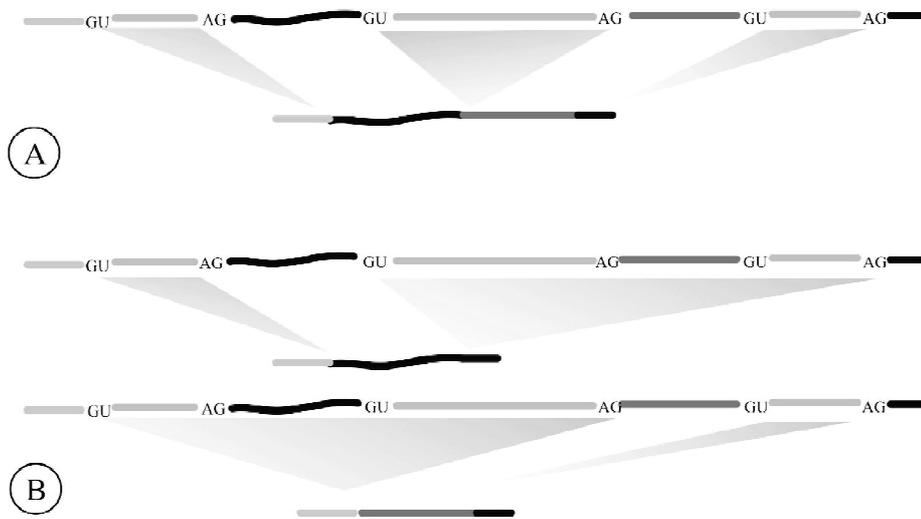
Retornando ao exemplo da fotossíntese em plantas, existem genes que são induzidos a se expressarem pela luz, como os responsáveis pela formação da clorofila. Nesse caso, o efeito da luz é para ativar uma proteína sensível, o fitocromo, que desencadeia o processo de reconhecimento dos fatores CIS específicos desses genes e promove o início da transcrição dos mesmos.

### 19.3.1.3 Processamento do pré-mRNA para formar o mRNA

Como sabemos, o produto da transcrição de um alelo eucarioto qualquer é uma molécula de pré-mRNA, em geral 5 a 10 vezes mais longa do que o mRNA. Isso acontece porque o pré-mRNA possui íntrons que precisam ser retirados, para restabelecer a mensagem codificada na sequência de bases, por meio da união dos éxons. Ocorre que a retirada de íntrons de um mesmo pré-mRNA nem sempre é igual nos diferentes órgãos ou indivíduos. Em consequência, um mesmo pré-mRNA irá originar cadeias polipeptídicas diferentes (Figura 19.8).

A expressão de caracteres sexuais masculinos ou femininos em *Drosophila*, é um exemplo interessante de processamento alternativo, durante a retirada de íntrons do pré-mRNA, para formar diferentes mRNAs.

Nesse exemplo, o alelo **dsx** da *Drosophila* possui seis éxons e cinco íntrons, e é responsável pela expressão de caracteres sexuais secundários masculinos ou femininos. Quando o pré-mRNA desse alelo é processado no macho, são retirados os cinco íntrons e também o quarto éxon. O mRNA formado codifica uma proteína, que é responsável pela expressão de caracteres sexuais secundários masculinos. Na fêmea, o processamento do pré-mRNA resulta na produção de um mRNA que possui só os quatro primeiros éxons e é traduzido em outra proteína, que é responsável pela expressão de caracteres sexuais secundários femininos. O processamento do pré-mRNA no macho é feito pelo sistema normal de processamento de outros genes, enquanto na fêmea, além do sistema normal também participa a proteína **Tra**. Essa proteína é codificada pelo alelo **tra**, que só se expressa na fêmea e é responsável pelo processamento alternativo do pré-mRNA do alelo **dsx**.



**FIGURA 19.8.** A. Representação de processamento do pré-mRNA com a retirada de todos os íntrons e união dos éxons; B. Representação de dois processamentos alternativos do mesmo pré-mRNA.

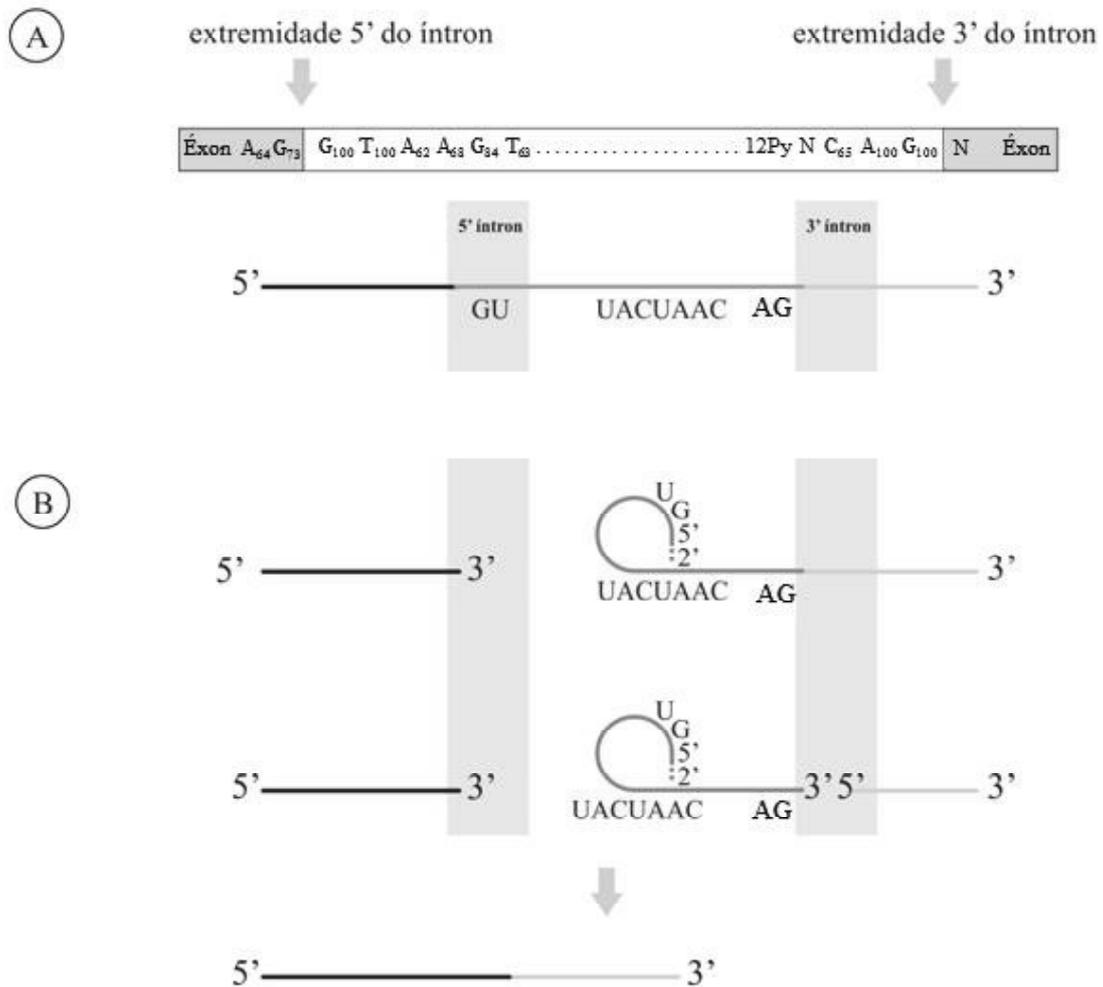
Um fato interessante é a ocorrência do alelo **tra** nos dois sexos. No entanto, ele só se expressa na fêmea, em razão de um processamento alternativo de seu pré-mRNA. No macho, o pré-mRNA é processado e é produzido um mRNA com quatro éxons, sendo que o segundo possui um ponto final de tradução. Em consequência, quando o mRNA é traduzido, não produz nenhuma proteína. Já, na fêmea, durante o processamento do pré-mRNA são retirados os íntrons e também o éxon 2, exatamente aquele que possui um ponto final de tradução. Portanto, o mRNA formado possui os éxons 1, 3 e 4, que é traduzido na proteína funcional **Tra**. Possivelmente, processamentos alternativos como esse em *Drosophila*, também expliquem a expressão limitada ao sexo de vários caracteres em diversas espécies, por meio da retirada do éxon portador de ponto final no sexo onde o alelo deve se expressar.

A retirada dos íntrons do pré-mRNA é feita com a participação de **RNA nucleares pequenos**, chamados de **snRNA**. Sabe-se que vários snRNA possuem atividade enzimática, e são, por isso, chamados de **ribozimas**. Elas são comuns na natureza, pois têm sido encontradas em plantas, animais, fungos e procaríotos. No sistema geral de processamento do pré-mRNA participam 5 snRNAs que ligam-se no íntron. Uma das razões porque os snRNAs reconhecem exatamente a sequência do íntron, é porque todos têm na extremidade 5' a sequência GU e na extremidade 3', a sequência AG. A união dos 5 snRNAs no íntron resulta na sua retirada em uma estrutura semelhante a um laço, seguida, simultaneamente, da união dos éxons vizinhos (Figura 19.9).

As ribozimas mais recentes foram descobertas a partir de análises de plantas infectadas por viróides - RNA de uma cadeia. Esses RNAs se autoclivam, isto é, utilizam as suas próprias

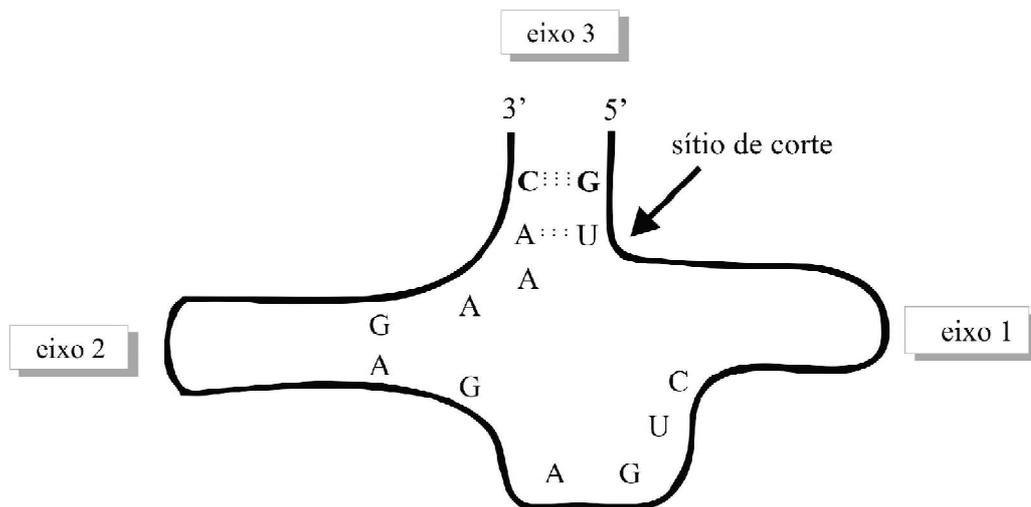
sequências de bases para realizar o corte e produzir as várias cópias, o que é importante para suas replicações nos eucariotos.

Uma ribozima tanto pode ser parte de um íntron, como pode ocorrer isolada, na forma de um snRNA, que reconhece os íntrons a serem retirados. Para isso, ela possui uma sequência chamada de **guia** com 6 bases - 5' GGAGGG 3' -, que é comum nas ribozimas conhecidas. A sua sequência guia reconhece o íntron, pareando-se com um sítio complementar para, em seguida, promover as reações que resultam na sua retirada.



**FIGURA 19.9.** A. Ilustração das extremidades 5' e 3' 100% conservadas de um íntron, na cadeia senso do DNA e no pré-mRNA. No DNA, Py pode ser T ou C e N pode ser A ou G ou C ou T. B. Retirada de um íntron na forma de um laço, seguida da união dos éxons vizinhos. A sequência UACUAAC no terço final do íntron é mais conservada para garantir o processo de sua retirada.

As seqüências de várias ribozimas são altamente conservadas e formam uma estrutura secundária com o sítio catalítico próximo ao local de clivagem. Esse grupo de ribozimas recebe o nome de **cabeça de martelo**. Esse nome é devido ao fato de o RNA possuir três seqüências em hélice dupla e onze bases em fita simples altamente conservadas, gerando uma estrutura secundária semelhante a um martelo (Figura 19.10). Essa ribozima pareia-se com uma segunda molécula de RNA e gera uma estrutura semelhante à cabeça de martelo, promovendo o corte do RNA. Um ponto comum de todas as ribozimas é que elas não gastam energia proveniente de trifosfatos de nucleotídeos, porém gastam magnésio. Uma versão artificial da ribozima cabeça de martelo é comercializada e tem sido utilizada na produção de transgênicos, quando o interesse é promover a degradação do mRNA, isto é, reprimir a expressão do gene que o codifica.



**FIGURA 19.10.** Esquema de uma ribozima cabeça de martelo. A seqüência situada no quadrante superior direito representa o sítio do íntron reconhecido pela ribozima. As 13 bases representadas por A, G, C e U, conectando o centro dos eixos, são comuns à todas as ribozimas e representam o seu sítio catalítico juntamente com os três eixos.

#### 19.3.1.4 Controle da tradução

A quantidade produzida de um polipeptídeo qualquer pode ser controlada durante a tradução e depende de vários fatores, sendo um dos mais importantes o controle do período de vida do mRNA.

Um dos mecanismos que controla o período de vida do mRNA é a regulação de sua própria degradação. A degradação do mRNA varia de minutos a meses, e ela pode afetar de modo significativo a taxa de síntese protéica. É vantajoso para a célula regular a degradação do mRNA, pois, quando ela necessitar de uma proteína específica, é preciso parar a síntese

daquelas desnecessárias. A célula faz isso de duas maneiras: a. para a síntese de mRNA; b. reduz a estabilidade dos mRNAs de vida longa já existentes, sendo então eliminados rapidamente.

Sabe-se que a degradação do mRNA é controlada em parte pela sua própria estrutura e também por meio de diversas outras substâncias, como proteínas e ribonucleases que se associam a ele. Em relação à estrutura do mRNA, são importantes os quatro segmentos que o constituem, isto é, a extremidade 5' não traduzida, a seqüência traduzida representada pelos éxons, a extremidade 3' e a cauda de poli A. O envolvimento dessas estruturas na degradação do mRNA consiste na maior ou menor afinidade de cada uma às proteínas e ribonucleases.

Há evidências de que os vírus desestabilizam os mRNAs das células infectadas, reduzindo a vida dos mesmos para liberar a maquinaria da célula para seu uso. No caso das histonas, elas próprias aumentam a degradação de seus mRNAs, nas células onde elas não são mais necessárias. A sua quantidade é 50 vezes maior na fase S do que na G1. Quando a replicação termina, também termina a transcrição de mRNA para histonas e a degradação se acelera. Sabe-se que a histona livre no meio celular está relacionada com a degradação do mRNA para histona. Foi constatado que a adição de histona em um meio livre de células que contém polirribossomos de mRNA para histonas, quadruplica a sua degradação. Sabe-se também, que a histona sozinha não degrada o mRNA. Assim, supõe-se que ela se liga ao mRNA na extremidade 3', a parte que degrada primeiro, e torna a região mais acessível às ribonucleases.

Em relação à regulação da tradução propriamente dita, em condições naturais, várias evidências têm indicado que ela ocorre com a participação do **RNA antissenso**. Como visto no Capítulo 3, o mRNA é o RNA senso, que é cópia e, portanto, complementar à cadeia antissenso do alelo. Já o RNA antissenso é cópia e complementar à cadeia senso do alelo. O RNA antissenso é um RNA complementar do pré-mRNA senso. Não existem evidências da ocorrência de RNA antissenso para todos os genes, mas já é conhecido um grande número de RNA antissenso naturais, tanto em plantas como em animais.

O principal efeito do RNA antissenso para impedir a tradução, é por meio do pareamento de 15 a 20 bases em cada lado do ponto inicial, 5' AUG 3'. Portanto, o seu efeito é no impedimento da união da subunidade menor do ribossomo com a maior, que ocorre no ponto inicial. Tal união não ocorre, principalmente porque a subunidade menor não consegue deslocar-se sobre mRNA quando em hélice dupla, para atingir o ponto inicial e ocorrer a formação do ribossomo funcional. Foi constatado que, a partir do momento em que o ribossomo funcional se forma, ele é capaz de separar as cadeias pareadas. Portanto, o pareamento do RNA antissenso com o mRNA, após o ponto inicial no sentido 3', não causa sua degradação.

O conhecimento do RNA antissenso tem levado alguns pesquisadores a utilizarem sua propriedade para inativar alguns genes cuja expressão é indesejada. Por exemplo, um trabalho realizado em uma empresa de biotecnologia nos Estados Unidos, resultou na produção de um tomate que é capaz de permanecer um tempo mais longo após colhido sem se amolecer. Como se sabe o amolecimento do fruto do tomate após colhido, tem como uma das causas a síntese da enzima poligalacturonase que degrada a parede celular. Assim a estratégia utilizada pelos pesquisadores foi, por meio de engenharia genética (Capítulo 17), introduzir um sítio promotor na extremidade 3' da cadeia senso do gene da poligalacturonase do tomate. Em consequência, foi transcrito um pré-mRNA complementar e idêntico à cadeia antissenso, isto é, a cadeia molde que é normalmente transcrita para formar a enzima poligalacturonase. Como resultado desse trabalho de engenharia genética, foi produzida uma planta onde o alelo responsável pela enzima foi transcrito nas duas cadeias de DNA e foram produzidas duas moléculas de pré-mRNA complementares. Tais moléculas pareiam-se, formando um RNA de hélice dupla, o que não é normal nas células do tomate e são, em consequência, degradadas. Portanto, a enzima poligalacturonase tem sua produção acentuadamente reduzida e o fruto permanece firme por um tempo mais longo após a colheita.

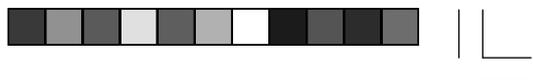
Outra classe de snRNAs também encontrada em várias células e que regula a expressão gênica, é a de RNA interferente, também denominado de RNA<sub>i</sub>. Este consta de uma pequena sequência de RNA, originalmente de hélice dupla que, posteriormente, transforma-se em cadeia única com a associação de uma enzima. Essa sequência de cadeia única viabiliza a sua união com mRNA e a enzima associada promove o corte do mRNA, reprimindo a expressão gênica. Essa estratégia também tem sido utilizada na obtenção de transgênicos, quando o objetivo é eliminar a expressão gênica.

#### 19.3.1.5 Controle após a tradução

Nesta etapa podem ocorrer várias alterações dos polipeptídeos formados com a adição de alguns radicais em alguns aminoácidos e a retirada em outros. Além disso, pode ocorrer também a degradação de proteínas, ora quando elas estão em excesso, ora para participar de outros processos metabólicos do organismo.

A degradação de proteínas que se encontram em excesso é necessária, porque elas se tornam prejudiciais à célula. Por exemplo, no caso de algumas das proteínas que constituem os ribossomos, quando elas ocorrem em quantidades maiores do que os rRNAs aos quais elas vão se unir, elas podem também se associar ao mRNA interferindo assim na sua tradução. Por isso, elas são degradadas pela célula. De modo semelhante, a subunidade menor da RuBisCO - da expressão Ribulose Bifosfato Carboxilase Oxigenase -, que é uma enzima importante durante a fotossíntese, quando ocorre em excesso dentro do cloroplasto, e não existe quantidade suficiente da subunidade maior para ela se unir, ela é então degradada.

A degradação de uma proteína pela célula também pode ser necessária para participar do metabolismo do indivíduo. Um exemplo interessante ocorre em nódulos radiculares de soja com *Rhizobium*. Durante o desenvolvimento do nódulo, observa-se um acúmulo máximo de ferro. O acúmulo na verdade, é de uma proteína que contém ferro, a ferritina, que é sintetizada no citoplasma e, posteriormente, absorvida pelo plasto. Durante o amadurecimento do nódulo, são acumuladas grandes quantidades de nitrogenase e leghemoglobina que consomem ferro. A fonte de ferro para essa fase de desenvolvimento do nódulo é exatamente a ferritina que necessita ser degradada para liberar o átomo de ferro.



# RESPOSTAS DOS PROBLEMAS PROPOSTOS

## Capítulo 3

1. Espécie 1. DNA de hélice dupla  
Espécie 2. DNA de hélice dupla  
Espécie 3. RNA  
Espécie 4. RNA  
Espécie 5. DNA de fita simples
2. a) 22% de citosina  
b) 4,72 bilhões de nucleotídeos  
c) 0,40 m
3.  $4^{1,18}$  bilhão Tipos de DNA
4. a) E1 I1 E2 I2 E3 I3 E4 I4 E5 I5 E6 I6 E7 I7 E8 3'  
b) 402
5. 15% de A; 15% de T; 35% de G e 35% de C
6.  $10^5$  vezes em média
7. 21960 pares de nucleotídeos
9. a) 201 aminoácidos  
b) 606 bases  
c) 201 tRNAs  
d) 1 ribossomo
10. a) A 5'AUGCACCGAAGAAUCCACCACCACCACAAUAGA3'  
b) 10 aminoácidos

- c) 100 tRNAs e 10 ribossomos
- d) Met – His – Arg – Arg – Ile – Pro – Pro – Pro – Pro – Gln
- e) Met – His – Arg – Arg – Ile – Arg – Tre – Tre – Tre – Tre

#### Capítulo 4

- 3.
  - a) 4 orientações
  - b) 15 células
  - c) 30 grãos de pólen
  - d) 8 tipos
  
- 5.
  - a) 12 cromossomos
  - b) 4096 gametas diferentes
  
- 7.
  - a)  $1/2^{19}$
  - b) 17,62%

#### Capítulo 5

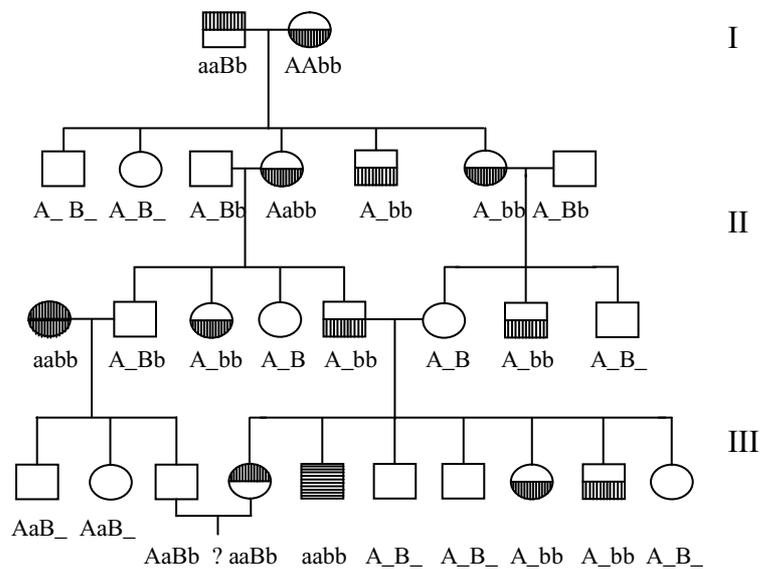
- 1.
  - a) Herança monogênica, havendo dominância do alelo que controla sementes lisas em relação ao alelo que condiciona sementes enrugadas.
  - c) 900 sementes
  - d) Por meio do cruzamento teste
  - e)  $1/2$  SuSu:  $1/3$  Susu :  $1/6$  susu  
 $5/6$  lisas :  $1/6$  enrugada
  
- 2. 82,5% lisas: 17,5% enrugadas
  
- 3. Cruzar machos e fêmeas de pescoço pelado da geração  $F_2$  com fêmeas e machos de pescoço normal. Observar a descendência de cada cruzamento; aquelas que não segregam são provenientes de indivíduos da  $F_2$  de genótipo **NN**, que é o desejado.
  
- 4.
  - a) Touro: **Mm**; vaca A: **mm**; vaca B: **mm**; vaca C: **Mm**
  - b) Cruzar os descendentes machos e fêmeas mochos com animais chifrudos. As descendências desses cruzamentos que não segregam identificam os machos e fêmeas homozigóticos mochos. Estes deverão ser intercruzados até se obter os 20 animais desejados.

5.  $15/32$  CC;  $1/16$  Cc;  $15/32$  cc  
 $17/32$  crespa:  $15/32$  lisa
6.  $1/4$  CC;  $1/2$  Cc;  $1/4$  cc  
 $3/4$  crespa:  $1/4$  lisa
7. a) Herança monogênica, havendo dominância do alelo que controla folha normal em relação ao alelo que condiciona folha batata.  
 b) 1. BB x bb 2. Bb x Bb 3. bb x bb 4. Bb x bb 5. BB x B\_
8. a)  $\chi^2_{F_2} = 1,55$  n.s. Herança monogênica, havendo dominância do alelo que controla florescimento precoce em relação ao alelo que controla florescimento tardio. Utilize esse resultado e explique os dados das demais populações.  
 b) 600 sementes
9. a) Cada caráter apresenta herança monogênica com dominância completa dos alelos que condicionam hipocótilo roxo (A) e folha normal (C). A distribuição destes genes é independente.  
 b)  $F_1$ : AACC x aacc  
 $F_2$ : AaCc x AaCc  
 $RC_1$ : AaCc x AACC  
 $RC_2$ : AaCc x aacc
10. a)  $F_2$  e  $RC_2$   
 b) Metáfase I e Anáfase I dos meiócitos da geração  $F_1$
11. a)  $(1/4)^{12}$   
 b)  $(1/2)^{12}$   
 c)  $(3/4)^{12}$   
 d)  $(3/8)^{12}$ ;  $(1/4)^{12}$ ;  $(5/8)^{12}$
12. Genitores: BbLL e bbll  
 Descendentes:  $1/2$  BbLl:  $1/2$  bbLl
13. Cruzar o cavalo com todas as éguas. Cruzar os descendentes  $F_1$  machos e fêmeas e obter na geração  $F_2$  animais marchadores e baios (ttA\_). Esses animais deverão ser cruzados com testadores de fenótipos marchador e preto, para identificar os marchadores e baios homozigóticos.

Genética na Agropecuária

14. a) 1/256  
 b) 81/256  
 c) 1/16  
 d) as mesmas
15. a)  $(7/16)^4$   
 b)  $(9/16)^4$   
 c) 1/4096
16. 5 autofecundações
17. Considerando que os pais não manifestaram a anomalia, a sua ocorrência na descendência só pode ser explicada considerando que o alelo é recessivo.
18. a) A anomalia 1 é condicionada por 1 gene, sendo a resistência devido ao alelo dominante. A mesma constatação é válida para a anomalia 2.

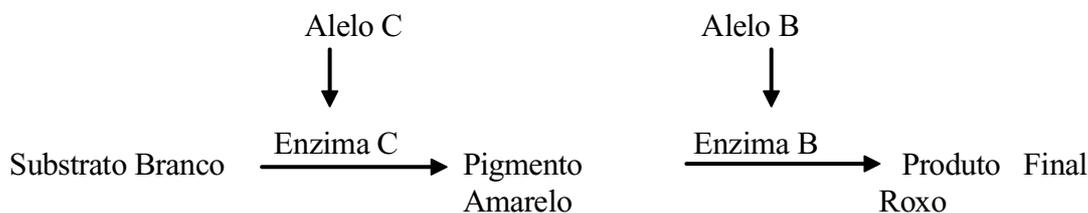
b)



- c) 3/8 resistente às duas doenças  
 1/8 resistente à 1 e suscetível à 2  
 1/8 resistente à 2 e suscetível à 1  
 1/8 suscetível às 2 doenças

**Capítulo 6**

1. FF, FF Ff
2. a) 3/16 mochos vermelhos: 6/16 mochos ruões : 3/16 mochos brancos: 1/16 chifrudos vermelhos: 2/16 chifrudos ruões : 1/16 chifrudos brancos.  
b) 320  
c) 4/18 mochos vermelhos: 8/18 mochos ruões : 1/18 chifrudos ruões : 4/18 mochos brancos : 1/36 chifrudos brancos : 1/36 chifrudos vermelhos
3. a) dominância incompleta  
b) facilita porque pode-se identificar qualquer genótipo através de seu fenótipo.  
c)  $r^1r^1 v^1v^1 \times r^2r^2 v^2v^2$  ou  $r^1r^1 v^2v^2 \times r^2r^2 v^1v^1$   
d) 800 plantas
4. a) segregação fenotípica da  $F_2$  é de 12:3:1, indicando que o caráter é controlado por dois genes com distribuição independente, os quais apresentam a interação do tipo epistasia dominante. Admitindo, por exemplo, os locos A e B e o alelo B o epistático aos alelos A e a.  
b) Genótipo da planta de frutos amarelos: Aabb  
Genótipo da planta de frutos brancos : aaBb
5. A segregação fenotípica da  $F_2$  é de 9:7, indicando que o caráter é controlado por dois genes com distribuição independente, os quais apresentam a interação do tipo epistasia recessiva dupla. No caso, podemos adotar com exemplo os locos L e H, sendo os epistáticos os alelos recessivos l e h.  
  
Genótipos dos genitores: LLhh x llHH
6. a) A explicação da herança do caráter considerado é semelhante às dos exercícios 5.4 e 5.5, só que no presente caso trata-se da epistasia recessiva, isto é, apenas o alelo recessivo de um dos locos é epistático.  
b) Considerando os locos C e B e como epistático recessivo o alelo c, a via metabólica será:



7. a) Branco; branco; branco; púrpura; vermelho  
 b) 52/64 branco : 9/64 púrpuro : 3/64 vermelho
8. a) Planta A: AaBb  
 Planta B: aabb  
 b) 100% aabb brancas
9. a) Planta alta e resistente às duas raças: AaBbC<sup>1</sup>C<sup>2</sup>  
 Planta baixa e resistente às duas raças: aabbC<sup>1</sup>C<sup>2</sup>  
 b) Reação ao patógeno: herança monogênica com interação alélica do tipo codominância. Porte da planta: herança digênica com distribuição independente e interação gênica do tipo epistasia dominante, sendo o alelo epistático o A, por exemplo.
10. a) A cor da plumagem é controlada por três genes, sendo os seguintes os genótipos das três raças:  
 Wyandotte Branca: iiccRR  
 Leghorn Branca: IICCRR  
 Silkie Branca: iiCCrr  
 Para ocorrer a cor da plumagem, podem ocorrer três epistáticos, sendo um dominante I e dois recessivos c e r, os quais condicionam plumagem branca. Em qualquer outra combinação genotípica, a ave será colorida.  
 b) F<sub>1</sub>: 100% brancas  
 F<sub>2</sub>: 13/16 brancas: 3/16 coloridas.

## Capítulo 7

1. a) 1/2  
 b) 1/4  
 c) 1/2  
 d) 1/2

2. a) 1/4096  
 b) 1/2048  
 c) 924/4096  
 d) 2510/4096
3. a) 1/128  
 b) 7/128  
 c) 99/128
4. 94,37%
5. 31,15%
6. a) 1/4096  
 b) 1/16777216  
 c) 7,05%
7. a) 557 e 856  
 b) 269 e 414  
 c) 124 e 192
8. a)  $\chi^2 = 3,60$  n.s.      d)  $\chi^2 = 0,29$  n.s.  
 b)  $\chi^2 = 0,38$  n.s.      e)  $\chi^2 = 0,36$  n.s.  
 c)  $\chi^2 = 0,95$  n.s.      f)  $\chi^2 = 3,23$  n.s.

### Capítulo 8

1. a) 3  
 b) 2  
 c) 3  
 d) 55; 10; 55  
 e) 10
2. Porque sendo um indivíduo diploide ele só pode possuir no máximo dois alelos.
3. a) 6  
 b) 78

4. a) 5 genótipos homocigotos e 10 genótipos heterocigotos.  
b) 5 fenótipos  
 $p^g p^g$ ,  $p^g p^s$ ,  $p^g p^o$ ,  $p^g p^t$ ,  $p^g p$  – vagem púrpura com suturas verdes  
 $p^s p^s$ ,  $p^s p^o$ ,  $p^s p^t$ ,  $p^s p$  – vagem verde com suturas púrpuras  
 $p^o p^o$ ,  $p^o p^t$ ,  $p^o p$  – vagem verde com sutura ventral púrpura  
 $p^t p^t$ ,  $p^t p$  – vagem com extremidade púrpura  
 $pp$  – vagem verde.
5. a) 3 genótipos heterocigotos e 3 homocigotos.  
b) 4 fenótipos  
c) 15 genótipos heterocigotos, 6 homocigotos e 8 fenótipos.
6. RR – 12,25% - vermelha  
Rr' – 14,00% - vermelha  
Rr – 31,50% - vermelha  
r'r' – 4,00% - manchas avermelhadas  
r'r – 18,00% - manchas avermelhadas  
rr – 20,25% - vermelho claro
7. O agricultor que plantou as cinco cultivares terá mais sucesso porque haverá no pomar, por ocasião da polinização, pólenes com diferentes alelos, o que irá permitir a produção de frutos. Aquele que plantou apenas uma cultivar não terá frutos no seu pomar, porque terá apenas dois alelos diferentes da série S.
8. a) 15 genótipos  
b) 33,33%
10. a) 3/9  
b) Obter linhagens que sejam  $S^1 S^1$ ,  $S^2 S^2$ ,  $S^3 S^3$  ou  $S^4 S^4$ . Semear no campo alternadamente duas dessas linhagens que tenham boa capacidade combinatória. Toda semente produzida será híbrida, pois dentro da mesma linhagem não há possibilidade de ocorrer cruzamentos. O mais difícil é manter as linhagens. Existem, para isto, duas alternativas, fazer a autofecundação no estágio de botão, quando provavelmente ainda não se formou a substância de incompatibilidade no pistilo ou então utilizar a cultura de tecidos para propagar as plantas vegetativamente.

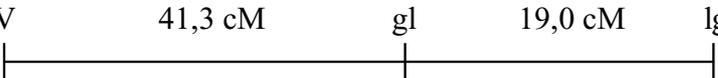
**Capítulo 9**

1. a) 72,25 de cada fenótipo  
b) Os genes não apresentam distribuição independente, portanto eles estão situados no mesmo cromossomo.
2. b) Aproximadamente 7 meiócitos apresentaram quiasma entre os dois genes considerados e 93 não apresentaram.
3. a) 24,96 cM  
b) Genitores:  $\frac{IC}{ic}$  e  $\frac{ic}{ic}$   
Descendentes:  $\frac{IC}{ic}$ ,  $\frac{ic}{ic}$ ,  $\frac{Ic}{ic}$  e  $\frac{iC}{ic}$   
c) Atração
4. a) A partir do resultado do  $RC_2$ , identifica-se mais facilmente que os genes estão ligados.  
b) Atração  
c) 40 cM
5. a) 52,89% aquênios pretos e folhas lisas  
22,11% aquênios pretos e folhas onduladas  
22,11% aquênios brancos e folhas lisas  
2,89% aquênios brancos e folhas onduladas  
b) 17% aquênios pretos e folhas lisas  
33% aquênios pretos e folhas onduladas  
33% aquênios brancos e folhas lisas  
17% aquênios brancos e folhas onduladas
6. a) Planta 1:  $\frac{PTs_2}{pts_2}$ ;      Planta 2:  $\frac{Pts_2}{pTs_2}$   
b) 1,3% em média  
c) 0,32%
7. a) Os genes q e f estão situados no mesmo cromossomo e são independentes de c  
b) A frequência de recombinação entre os genes g e f é nula porque não ocorreram descendentes recombinantes para eles.

Genética na Agropecuária

8. a) 4% folhas estreitas, normais e resistentes ao *Fusarium*  
 4% folhas estreitas, normais e suscetíveis ao *Fusarium*  
 21% folhas estreitas, onduladas e resistentes ao *Fusarium*  
 21% folhas estreitas, onduladas e suscetíveis ao *Fusarium*  
 21% folhas largas, normais e resistentes ao *Fusarium*  
 21% folhas largas, normais e suscetíveis ao *Fusarium*  
 4% folhas largas, onduladas e resistentes ao *Fusarium*  
 4% folhas largas, onduladas e suscetíveis ao *Fusarium*

b) 0,16%

9. a) 

b) 35,01% das permutas duplas esperadas não ocorreram

c) 
$$\frac{v \text{ Gl } lg}{V \text{ gl } Lg}$$

10. a) 

b) 12 cM, 18 cM, 4 cM, 7 cM, 1 cM, 3 cM

11. a) 1 – 20,79%  
 2 – 1,26 x 10<sup>-4</sup>%  
 b) 1 – 0,046%  
 2 – 0,046%

12. a) 
$$\frac{H \ A \ Id}{h \ a \ id} \times \frac{h \ a \ id}{h \ a \ id}$$

- b) 327 pilosa, com antocianina e flores deiscentes,  
 73 pilosa, com antocianina e flores indeiscentes,  
 14 pilosa, sem antocianina e flores deiscentes,  
 86 pilosa, sem antocianina e flores indeiscentes,  
 86 sem pêlos, com antocianina e flores deiscentes,  
 14 sem pêlos, com antocianina e flores indeiscentes,  
 73 sem pêlos, sem antocianina e flores deiscentes,  
 327 sem pêlos, sem antocianina e flores indeiscentes,

13. a) 20,5% Cr<sub>1</sub> d<sub>1</sub> a  
 20,5% cr<sub>1</sub> D<sub>1</sub> A  
 4,5% Cr<sub>1</sub> D<sub>1</sub> A  
 4,5% Cr<sub>1</sub> D<sub>1</sub> a  
 4,5% cr<sub>1</sub> d<sub>1</sub> A  
 4,5% cr<sub>1</sub> d<sub>1</sub> a  
 20,5% Cr<sub>1</sub> d<sub>1</sub> A  
 20,5% cr<sub>1</sub> D<sub>1</sub> a
- b) 3253 plantas
14. a) Existem duas hipóteses para explicar o resultado: a primeira é a existência de dois genes muito próximos num cromossomo e, como consequência, não foram produzidos descendentes recombinantes. A segunda é a reação de caupi aos dois organismos ser controlada por apenas um gene e nesse caso ele é pleiotrópico.
- b) Para discriminar as hipóteses deve-se realizar um cruzamento teste ou obter uma geração F<sub>2</sub>. Em ambos os casos, é necessário utilizar uma população de maior tamanho possível, a fim de se incrementar a chance de ocorrerem recombinantes, caso estejam envolvidos dois genes ligados.

### Capítulo 10

1. O gene é influenciado pelo ambiente. No caso, o alelo responsável pela produção da enzima tirosinase só se manifesta em temperaturas baixas.
2. a) Os genes responsáveis pela produção de clorofila são influenciados pelo ambiente e só se manifestam em presença da luz  
 b) Deve ser algum mutante do alelo que condiciona a produção de clorofila.  
 c) Fenocópia de alelo mutante.
3. a) As médias dos locais  
 b) As médias das cultivares  
 c) O comportamento das cultivares nos vários locais não foram consistentes. Observe, por exemplo, que a cultivar com maior média em Ponte Nova – “ESAL 502” -, foi a que apresentou o pior rendimento em Machado;  
 d) Devido à ocorrência de interação, para cada local deve-se identificar a cultivar mais apropriada.

## Genética na Agropecuária

4.	Cultivar	Machado	Caldas
	ESAL 502	91	1825
	ESAL 505	595	2329
	ESAL 506	482	2216
	ESAL 508	465	2199
	Carioca	40	1774
	Média	335	2069

5. a) Não ocorreu interação  
b) Houve interação  
c) Houve interação entre os locais 1 e 2 e não houve interação dos locais 2 e 3.
6. a) Sim  
b) Que a recomendação das cultivares de feijão deva considerar o sistema de plantio
7. a) Sim. Observe que a melhor progênie em 1954 – C 376 –1 – foi a pior no ano de 1959  
b) A recomendação de cultivares de café não deve ser baseada no desempenho de um ou poucos anos. Na realidade, a média de vários anos é fundamental para uma espécie, perene, como é o caso do cafeeiro.
8. a) O alelo que controla suscetibilidade deve apresentar penetrância incompleta.  
b) O alelo em questão apresenta expressividade variável. Nesse caso o alelo deve apresentar penetrância incompleta e expressividade variável.
9. Tomar um certo número de sementes, de cada tipo, e plantá-las em uma mesma condição ambiental, porém isoladas e de preferência em um local que não havia sido cultivado com feijão anteriormente. Se dentro de cada lote ocorrerem os mesmos padrões de variação das manchas, é um caso de expressividade variável. Se por outro lado as manchas forem distintas para cada lote, deve ser um caso de alelos diferentes – variação genética, provavelmente devido à mistura varietal.

## Capítulo 11

1. a) 18 autossomos  
b) Macho  $36A + XY$ ; Fêmea  $36A + XX$   
c)  $1/4096$
2. O zangão das abelhas. Por quê?

3. a) Macho 76A + ZZ; Fêmea 76A +ZW  
b) 60,47%
4. a) 1/32  
b) 1/2
5. A probabilidade de que esse fato ocorra é de 1,6%. Essa probabilidade, apesar de baixa, é perfeitamente viável. Sendo assim, é aconselhável obter mais alguns descendentes antes de tomar a decisão de sacrificar o touro.
6. A condição é que o macho seja  $Z_D Z_d$ , ou seja, heterozigótico. Tendo ele esse genótipo, a probabilidade de se obter o fenótipo desejado em todos os 10 descendentes será: 1/1048576.
7. Esse é um caráter cuja herança é influenciada pelo sexo. Observe que o alelo para ausência de chifres funciona como dominante nas fêmeas e recessivo nos machos, e o alelo para a presença de chifres atua como recessivo nas fêmeas e dominante nos machos.
8. O caráter tem a expressão fenotípica condicionada por um gene ligado aos cromossomos sexuais. A interação alélica nesse caso é de dominância incompleta; assim, o macho, por ser o sexo homogamético, pode conter os dois alelos nos cromossomos Z e, portanto, pode ter uma das três cores da pele. A fêmea só possui um cromossomo Z e, portanto, não apresentar a cor preta, que depende do genótipo homozigótico para o alelo que condiciona pele preta.
9. As fêmeas nos gatos, por serem XX, podem carregar os alelos  $B^1 B^2$ , que conferem as cores amarela e preta ao mesmo tempo. O macho, por ser XY, só pode ser preto ou amarelo.
10. O touro não produz leite, mas transmite os alelos para essa característica aos seus descendentes do sexo feminino.

## Capítulo 12

1. a) 4 genes;  
b) Contribuição de cada alelo efetivo 1m;  
Genótipos do genitores:  $P_1 - 12m A^1 A^1 B^1 B^1 C^1 C^1 D^1 D^1$ ;

Genética na Agropecuária

$$P_2 - 20m \quad A^2A^2B^2B^2C^2C^2D^2D^2$$

$$F_1 - A^1A^2B^1B^2C^1C^2D^1D^2$$

Heteose é nula

c) 5468,75 árvores

d) 2187,50 árvores

$$e) A^1A^1B^1B^1C^2C^2D^2D^2 \quad X \quad A^2A^2B^2B^2C^1C^1D^1D^1$$

f) 6 genes – contribuição de cada alelo efetivo é de 0,6667

g) À medida que se aumenta o número de genes, há uma diminuição na contribuição de cada alelo efetivo.

2. a) Contribuição de cada loco recessivo  $aa = bb = cc = dd = 3m$

Contribuição de cada loco dominante  $A_ = B_ = C_ = D_ = 5m$

b) Altura  $\bar{P}_1 = \bar{P}_2 = 16m$ ;  $\bar{F}_1 = 20m$

O número de fenótipos esperado em  $F_2$  será de 5 com uma amplitude de variação de 12 a 20m.

c)  $F_1 = 4m$  e  $F_2 = 2m$

3. a) Interação aditiva

b) 5 genes

c) 2,8 carrapatos/animal

Genótipos dos genitores: Nelore  $A^1A^1B^1B^1C^1C^1D^1D^1E^1E^1$ ; Holandês

$A^2A^2B^2B^2C^2C^2D^2D^2E^2E^2$

Mestiços:  $A^1A^2B^1B^2C^1C^2D^1D^2E^1E^2$

d)	Fenótipos	(nº de carrapatos/animal)	Proporção fenotípica
		30,0	1/1024
		27,2	10/1024
		24,4	45/1024
		21,6	120/1024
		18,8	210/1024
		16,0	252/1024
		13,2	210/1024
		10,4	120/1024
		7,6	45/1024
		4,8	10/1024
		2,0	1/1024

e) 492 indivíduos

4. 41.943.040 animais

Respostas dos Problemas Propostos

5. a) 0,0015% - 50g : 0,02% - 48,75g : 0,18% - 47,50g : 0,85% - 46,25g :  
 2,78% - 45g : 6,67% - 43,75g : 12,22% - 42,5g : 17,46% - 41,25g :  
 19,64% - 40g : 17,46% - 38,75g : 12,22% - 37,5g : 6,67% - 36,25g :  
 2,78% - 35g : 0,85% - 33,75g : 0,18% - 32,5g : 0,02% - 31,25g :  
 0,0015% - 30g .
- b) 10,01% - 50g : 26,67% - 47,5g : 31,15% - 45g : 20,76% - 42,5g :  
 8,65% - 40g : 2,31% - 37,5g : 0,38% - 35g : 0,04% - 32,5g :  
 0,001% - 30g .
6. a) 1 planta em 1.048.576 plantas da geração  $F_2$   
 b) 1 planta em  $1,606938 \times 10^{60}$   
 c) Quanto maior o número de genes controlando o caráter, maior deve ser a população para se selecionar o fenótipo desejado. Observe que com o aumento do número de genes, além da necessidade de uma população enorme, há uma grande dificuldade em identificar o fenótipo desejado na população de plantas obtidas.  
 d) 1024 linhagens.
7. a) Porque nessa geração, além da variação ambiental, ocorre a maior variação genética, devido à segregação e recombinação dos genes.  
 b) Nos dois retrocruzamentos ocorre também variação ambiental e genética, porém a variação genética é menor que a da geração  $F_2$ .  
 c) Como  $\frac{\bar{P}_1 + \bar{P}_2}{2} \sim \bar{F}_1 \sim \bar{F}_2$ , a ação gênica deve ser aditiva.  
 d) 1 gene.
8. a) 74,69%  
 b) 60,57%  
 c) 2,79%  
 d) Porque a herdabilidade no sentido restrito no caráter não é de 100%.
9. a) 196,6425 kg  
 b) Partir do plantel bimestiço no qual ocorre maior variação genética.  
 c) Cruzando-se (1/2H ; 1/2SG) x (H) obtém-se o plantel (3/4H ; 1/4SG).  
 Cruzando-se (1/2H ; 1/2SG) x (3/4H ; 1/4SG) ou (3/4SG ; 1/4H) x (H), obtém-se o plantel.

(5/8H ; 3/8SG).

Cruzando-se (3/4H ; 1/4SG) x (H), obtém-se (7/8H ; 1/8SG).

d) Plantel (3/4H ; 1/4SG) média esperada = 197,28 kg

Plantel (5/8H ; 3/8SG) média esperada no cruzamento (1/2H ; 1/2SG) x (3/4H ; 1/4SG) = 196,96 kg e no cruzamento (3/4SG ; 1/4H) x (H) a média será = 206,975 kg.

Plantel (7/8H ; 1/8SG) média esperada = 187,585 kg.

10. a) Heterose  $V_4 \times V_5 = 3,35$   
Heterose  $V_5 \times V_6 = 5,70$   
b)  $\bar{F}_2$  híbrido  $V_4 \times V_5 = 28,025$   
 $\bar{F}_2$  híbrido  $V_5 \times V_6 = 25,05$   
c) O caráter deve ser controlado por genes cuja interação alélica predominante é de dominância e/ou sobredominância.  
d) Média do híbrido  $(V_1 \times V_2) \times V_3 = \bar{F}_1 = 27,7$  ;  $\bar{F}_2 = 27,525$   
Média do híbrido  $(V_4 \times V_5) \times V_3 = \bar{F}_1 = 27,95$  ;  $\bar{F}_2 = 28,206$   
e) Média do híbrido duplo  $\bar{F}_1 = 25,5$  ;  $\bar{F}_2 = 25,4625$
11. a) 45 híbridos duplos  
b) (B x C) x (A x E)  
c) A redução será de 20,8%. Essa redução ocorre porque na geração  $F_2$  há segregação e recombinação dos genes, e a frequência de locos em heterozigose é reduzida à metade. Em consequência a heterose manifestada na geração  $F_1$  é reduzida também em 50%.  
d) 69,5 vezes.
12. a) 15 híbridos duplos  
b) (AD) x (BC)

### Capítulo 13

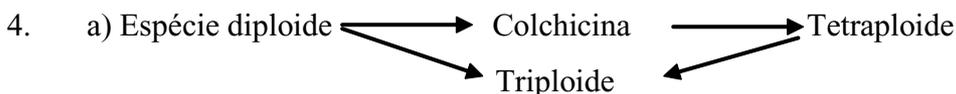
1. a) Frequências genotípicas:  $B^1B^1 = 0,086$ ;  $B^1B^2 = 0,438$ ;  $B^2B^2 = 0,476$   
Frequências alélicas:  $B^1 = 0,305$ ;  $B^2 = 0,695$   
b) O  $\chi^2$  foi significativo, portanto a população não está em equilíbrio
2. a)  $V^1 = 0,75$ ;  $V^2 = 0,25$   
b) Vermelhas = 1125 e Rosas = 750
3. Este problema pode ter duas respostas

- a) Eliminando as plantas de flores vermelhas e brancas antes da polinização: Vermelhas =  $1/4$ ; Rosas =  $1/2$  e Brancas =  $1/4$   
b) Coletando as sementes sem haver eliminação das plantas de flores vermelhas e brancas: Vermelhas =  $3/8$ ; Rosas =  $1/2$  e Brancas =  $1/8$
4. a)  $B = 0,80$   
b) 33 animais
5. 2,78%
6. a) 0,4  
b) 3600 plantas  
c) 1,78%
7. 7 ciclos de seleção
8. Na população em que apenas 0,49% das plantas ainda apresentam bulbos amarelos
9. a)  $S_u = 0,4198$  e  $Y = 0,30$   
b) 1,59%
10. a)  $S_u = 0,6328$ ;  $s_u = 0,3672$ ;  $Y = 0,5882$ ;  $y = 0,4118$   
b) 71,84%
11. 46,24%

### Capítulo 14

1. a)  $2n = 14$ ;  $2n = 28$ ;  $2n = 42$ ;  $2n = 56$   
b) Uma das maneiras é por meio da análise meiótica das espécies, procurando identificar a ocorrência de multivalentes. Em caso positivo, teríamos um autoploiploide; em caso negativo, teríamos um aloploiploide.
2. a)  $2n = 36$ ;  $2n = 72$ ;  $2n = 144$   
b) Impedindo a formação das fibras do fuso
3. a) 14

b) *Triticum monococcum* – genoma A – x *Aegilops speltoides* – genoma B – produziu o anfídiploide AB. Após a duplicação dos cromossomos, é obtido o indivíduo AABB. Do seu cruzamento com *Aegilops squarrosa* – genoma D – e após a duplicação dos cromossomos, foi obtido o *Triticum aestivum* com a constituição AABBCC.

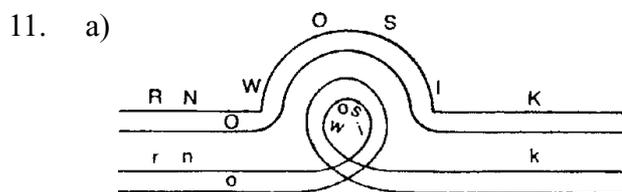


b) Devido ao alto grau de esterilidade dos triploides e à formação de gametas não balanceados quanto ao número de cromossomos

5. a) *B. nigra*  $2n = 2x_1 = 16$ ; *B. oleracea*  $2n = 2x_2 = 18$ ;  
*B. campestris*  $2n = 2x_3 = 20$   
b)  $2n = x_2 + x_3 = 19$   
c) Principalmente univalentes, devido à falta de homologia entre os cromossomos às duas espécies.  
d) Estéreis;  $2n = 2x_2 + 2x_3 = 38$   
e) Fértil, porque cada genoma será constituído por duas cópias de cada cromossomo, o que permitirá uma meiose normal
6. a)  $2n = x_1 + x_2 + x_3 = 27$   
b) Deverá ser anormal devido à falta de homologia entre os cromossomos das três espécies  
c) Alohexaploide, sendo  $2n = 2x_1 + 2x_2 + 2x_3 = 54$
7. a) YYy  
b) Yyy  
c) 50% YYy e 50% yyy  
d) 25% YYY; 25% YYy; 25% Yyy; 25% yyy
8. a) Amarelo  
b) Amarelo-claro  
c) 50% Amarelo e 50% Branco  
d) 25% Alaranjado; 25% Amarelo; 25% Amarelo-claro; 25% Branco

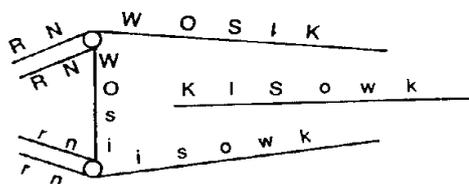
9. a) Haploide  
 b) Triploide  
 c) Tetraploide  
 d) Nulissômico  
 e) Monossômico- trissômico  
 f) Monossômico  
 g) Trissômico  
 h) Tetrassômico  
 i) Trissômico duplo  
 j) Monossômico duplo

10. Inversão. Este tipo de aberração reduz sensivelmente a frequência de permutação entre os genes situados na região invertida ou próxima a ela, devido à formação de uma alça durante o paquíteno.

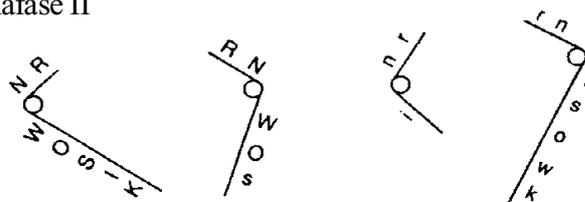


b)

Anáfase I

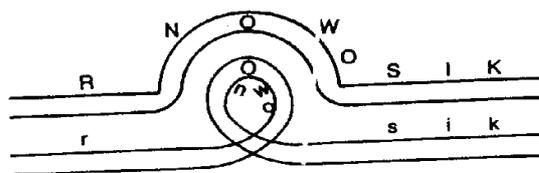


Anáfase II



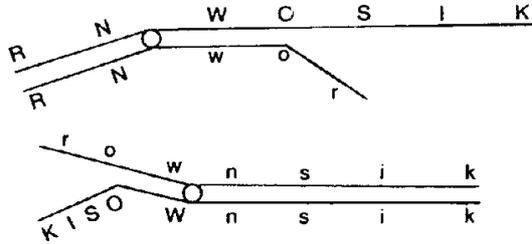
c) 50%

12. a)

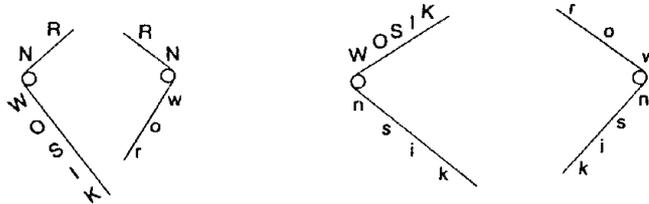


b)

Anáfase I



Anáfase II



c) 50%

13. Translocação. Este tipo de aberração cromossômica envolve a quebra de dois cromossomos não homólogos e a subsequente união dos segmentos aos cromossomos não correspondentes.
14. Pareamento em forma de cruz
15. Deficiência. As radiações ionizantes podem provocar quebras cromossômicas e perda do segmento se este não possuir centrômero. No caso de ter ocorrido quebra no segmento onde se encontrava o alelo Y, o fenótipo da  $F_1$  poderá ser correspondente ao alelo y

### Capítulo 16

1. a) Pai: RR; Mãe: rr;  $F_1$ : Rr;  $F_2$ : 1/4 RR : 1/2 Rr : 1/4 rr  
 b) 3/8 RR : 1/4 Rr : 3/8 rr  
 3/4 enrolada para a direita : 1/4 enrolada para a esquerda
2. O procedimento consiste em cruzar plantas normais com anormais e analisar os descendentes. Se os genes forem nucleares, temos duas situações e necessitamos obter pelo menos as gerações  $F_1$  e  $F_2$ ; a primeira situação é a mais comum e neste caso os

genes se expressam apenas nos indivíduos que os possuem; na Segunda, temos o fenômeno denominado efeito materno, na qual o fenótipo do filho será sempre idêntico ao da mãe, independente do seu genótipo. Se a anormalidade foi devida a genes citoplasmáticos, temos de obter pelo menos até a geração  $F_3$  e o fenótipo de todas as gerações descendentes será idêntico ao do genitor feminino. Porém, se tratar de efeito ambiental, o procedimento dispensa o cruzamento. Basta avaliar a planta anormal ou seus descendentes em outro ambiente e a anormalidade desaparecerá.

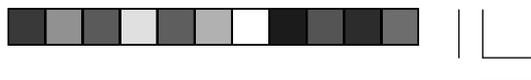
3. A herança de teor de óleo é explicada pelo efeito materno, porque o fenótipo de qualquer descendente é a expressão do genótipo da mãe.
  4. A partir de um cruzamento de genitores puros contrastantes para um determinado caráter, se o fenótipo do pai não ocorrer em nenhuma geração descendente, trata-se de herança extracromossômica. Porém, se o fenótipo do genitor masculino ocorrer pelo menos até a segunda geração, é porque se trata de genes ligados aos cromossomos sexuais.
  5.
    - a) É um caso de efeito materno em que o genótipo da mãe expressa apenas na fase juvenil dos filhos
    - b) 1 – (♀) dd x DD (♂) e (♀) DD x dd (♂)
    - c) 1. Jovens: 100% amargos  
Adultos: 3/4 amargos : 1/4 doces
    2. Jovens : 100% amargos  
Adultos: 3/4 amargos : 1/4 doces
  6.
    - a) Sim
    - b) Obtém-se a geração  $F_3$ . Se ocorrer apenas o fenótipo do genitor feminino, a hipótese sugerida fica comprovada
  7. a) Uma das possibilidades é: 1. ♀ – V V(N) x v v (A) – ♂  
2. ♀ – v v (A) x V V(N) – ♂
- Nestes casos, os resultados seriam 100% verdes e 100% amarelas, respectivamente
- b) Utilizando as  $F_1$  como fêmeas nos retrocruzamentos, são esperados:
    - 1)  $RC_1$  e  $RC_2$  – 100% verdes
    - 2)  $RC_1$  e  $RC_2$  – 100% amarelas

Genética na Agropecuária

- c) 1) 3/4 verdes : 1/4 amarelas;  
2) 100% amarelas  
d) 3/4 verdes : 1/4 amarelas ou 100% amarelas, dependendo de qual  $F_1$  foi a mãe
8. A cor da folha é controlada por gene citoplasmático. O comprimento da arista é um caráter monogênico, sendo dominante o alelo para arista longa e recessivo o alelo para arista curta.
9. a) 100 % normais  
b) 100 % normais  
c) 100 % normais  
d) 100 % amarelados  
e) 3/4 normais : 1/4 amarelados  
f) 100% amarelados
10. a) É devida a gene citoplasmático  
b) 1) 100% brancos;  
2) 100% verdes;  
3) verdes, variegados e brancos;  
4) 100% brancos
11. Cruza-se a planta macho-estéril. Se todas as gerações descendentes desta planta apresentarem somente indivíduos macho-estéreis, é porque o caráter se deve a gene citoplasmático. Por outro lado, se ocorrerem segregações de indivíduos macho-férteis e macho-estéreis, é porque se trata de gene nuclear
12. Por meio de retrocruzamentos sucessivos, utilizando-se sempre a linhagem desejada como genitor recorrente. Maiores informações são fornecidas no texto
13. a)  $Rfrf(E)$   
b)  $RfRf$  independente do citoplasma  
c) Obtenção dos híbridos simples (HS):  
1)  $rfrf(E) \times Rfrf(E) = Rfrf(E)$  – HS macho-fértil  
2)  $rfrf(E) \times rfrf(N) = rfrf(E)$  – HS macho-estéril
- Obtenção do híbrido duplo:  
 $rfrf(E) \times Rfrf(E) = 1/2 Rfrf(E) =$  macho-fértil  
 $1/2 rfrf(E) =$  macho-estéril

Respostas dos Problemas Propostos

- d) A linhagem promissora macho-fértil, se obtida de população sem o alelo restaurador, a sua constituição deve ser  $rfrf(N)$ . Através de retrocruzamentos sucessivos com uma planta macho-estéril, transfere-se o genótipo da linhagem desejada para o citoplasma macho-estéril. Desse modo, consegue-se a linhagem desejada com a constituição macho-estéril. O cruzamento delas irá produzir sempre a linhagem macho-estéril.
15. A anomalia é causada provavelmente por genes citoplasmáticos. Isso porque a descendência sempre apresentou o fenótipo da mãe que contribuiu com o citoplasma no cruzamento.



# GLOSSÁRIO

## A

***Aberrações cromossômicas*** – Qualquer tipo de alteração na estrutura ou no número de cromossomos.

***Aborto*** – Interrupção da vida de um indivíduo na fase embrionária ou de um gameta.

***Acasalamento ao acaso*** – Acasalamento entre indivíduos de uma população em que os parceiros unem-se aleatoriamente. O resultado na descendência equivale à união aleatória de gametas da população.

***Ácido desoxirribonucléico (DNA)*** – Material genético primário, da maioria dos organismos, constituído de duas fitas complementares constituídas pelos desoxirribonucleotídeos de A, T, G e C. de polinucleotídeos.

***Ácido ribonucléico (RNA)*** – Ácido nucléico envolvido na transferência da informação genética e sua decodificação em uma cadeia polipeptídica. Em alguns vírus, ele é o material genético primário.

***Acrocêntrico*** – Cromossomo cujo centrômero se localiza próximo a uma das extremidades, dividindo-o em dois braços de tamanhos bem distintos.

***ADP*** – Difosfato de adenosina.

***Adaptação*** – Ajustamento de um organismo ou população ao meio ambiente. O organismo será tanto mais adaptado quanto maior for a sua descendência.

***Adenina*** – Base nitrogenada purínica, que ocorre nos ácidos nucléicos e que se pareia com a timina no DNA e com uracila nos segmentos de fita dupla do RNA.

***Agente alquilante*** – São agentes químicos que podem adicionar, por exemplo, um grupo etílico ou metílico a outras moléculas. Muitos mutagênicos são agentes alquilantes.

***Agente intercalante*** – São substâncias que se inserem na molécula de DNA causando mutação por adição ou deleção de bases.

***Ala*** – Aminoácido alanina.

**Albino** – Indivíduo - plantas ou animais - caracterizado pela ausência de pigmentos.

**Alelos** – Formas alternativas de um gene, situadas em um mesmo loco em cromossomos homólogos e responsáveis pelas diferentes manifestações fenotípicas do caráter.

**Alelo fixado** – É a denominação dada quando todos os indivíduos da população são homocigóticos para um dado alelo.

**Alelo letal** – Aquele que provoca a morte do indivíduo que o possui quando em homocigose.

**Alelo recessivo** – Veja *Recessivo*.

**Alelos múltiplos** – Quando um gene representado por mais de dois alelos.

**Alógama** – Veja espécie alógama.

**Alopoliploide ou aloploide** – Organismo que possui dois ou mais genomas provenientes de espécies distintas, repetidas duas ou mais vezes.

**Alotetraploide** – Organismo que possui dois genomas diferentes, cada um representado duas vezes.

**Ambiente** – Conjunto das condições externas ao organismo e que afetam o seu crescimento e desenvolvimento.

**Ambíguo** – Códon com propriedade de codificar mais de um aminoácido.

**Aminoácido** – Substância orgânica que contém grupamentos carboxila (COOH) e amina (NH<sub>2</sub>) e que são os constituintes das proteínas. Existem vinte aminoácidos diferentes que participam da síntese de proteínas.

**Aminoacil** – *tRNA sintetase* - Enzima específica para cada aminoácido e que participa da sua ativação e do carregamento dos tRNAs, durante a biossíntese protéica.

**Amostra** – Subconjunto de uma população por meio do qual se estimam as propriedades e características dessa população.

**Amplificação** – A produção de muitas cópias de fragmentos de DNA.

**Amplificação gênica** – Processo de regulação da expressão gênica pelo qual o número de cópias de certos genes é aumentado nas células somáticas.

**Anáfase** – Uma das fases da divisão celular em que ocorre a segregação cromossômica ou cromatídica para os pólos opostos da célula.

**Análogo de base** – Bases nitrogenadas com propriedades semelhantes àquelas que ocorrem normalmente nos ácidos nucléicos e que geralmente são causas de mutação.

**Andromonoico** – Expressão sexual observada em algumas espécies em que as plantas produzem no mesmo indivíduo flores masculinas e hermafroditas.

**Anelamento** – Pareamento espontâneo de duas fitas do DNA para formar a hélice dupla.

**Aneuploide** – Organismo cujo conjunto somático tem excesso ou falta de determinados cromossomos.

**Anfidiploide** – Indivíduo proveniente da hibridação de duas ou mais espécies diplóides. Eles são normalmente estéreis pela falta de homologia dos cromossomos.

**Ângstron** – Unidade de medida de comprimento, equivalente a  $10^{-10}$  m. É muito utilizada no dimensionamento de estruturas celulares. É simbolizado por Å.

**Anticódon** – Sequência de três nucleotídeos no tRNA, complementares ao códon no mRNA, sendo responsável pelo correto posicionamento dos aminoácidos na cadeia polipeptídica.

**Anticorpo** – Também chamado de imunoglobulina. É uma proteína produzida pelo sistema imunológico de animais e que possui a capacidade de reconhecer, ligar e inibir uma substância específica, denominada antígeno.

**Antígeno** – Substância, normalmente proteína, que estimula a produção de anticorpos quando introduzida em um animal.

**Antiparalelas** – São as fitas complementares da molécula do DNA que apresentam direções opostas.

**Arg** – Aminoácido arginina.

**Asn** – Aminoácido asparagina

**Asp** – Aminoácido ácido aspártico

**Assexuada** – Forma de multiplicação ou reprodução que não envolve a fusão de gametas. Caracteriza-se por produzir descendentes geneticamente idênticos ao genitor.

**Assinápse** – Fenômeno genético responsável pelo não pareamento dos cromossomos homólogos durante a prófase I da meiose.

**Atenuador** – Região adjacente aos genes estruturais de alguns operons. Essa região atua para determinar a taxa mais adequada de transcrição do operon.

**ATP** – Trifosfato de adenosina - molécula energética da célula sintetizada principalmente nas mitocôndrias e cloroplastos.

**Atração** – Quando em um cromossomo estão presentes os alelos dominantes ou recessivos de dois genes diferentes.

**Autofecundação** – Modo de reprodução sexuada em que os gametas masculinos e femininos são oriundos do mesmo indivíduo. Ocorre predominantemente nos vegetais.

Genética na Agropecuária

**Autofertilidade** – Capacidade para produzir sementes por autofecundação.

**Autógama** – Veja espécie autógama.

**Auto-incompatibilidade** – Mecanismos genético-fisiológicos que impedem a autofecundação das plantas que produzem gametas de ambos os sexos.

**Autopoliploide** – Organismo que possui um único genoma repetido mais de duas vezes.

**Autossomo** – São todos os cromossomos de um organismo não diretamente relacionados com a determinação do sexo.

## B

**Bacteriófago** – Partícula viral que infecta as bactérias para sua multiplicação, ocasionando a destruição do seu hospedeiro.

**Banco de germoplasma** – Local onde são mantidas coleções de indivíduos visando a preservar a variabilidade genética existente em uma ou mais espécies. No banco de germoplasma, a manutenção da variabilidade pode ser feita utilizando sementes, propágulos ou o próprio indivíduo.

**Biblioteca de DNA** – Coleção de fragmentos de DNA clonados, provenientes de uma espécie qualquer, a partir da fragmentação do DNA genômico por enzimas de restrição.

**Biblioteca de cDNA** – Uma coleção de cDNAs de uma espécie não necessariamente representando todos os mRNAs.

**Biometria** – É a aplicação da estatística aos dados biológicos para que os mesmos possam ser interpretados.

**Bivalente** – Par de cromossomos homólogos pareados durante a meiose por meio do complexo sinaptonêmico.

**Braço cromossômico** – Corresponde a cada uma das partes dos cromossomos separados pelo centrômero.

## C

**CAP** – Proteína ativadora do catabolismo, cuja presença é necessária para a ativação do operon da lactose.

**Calo** – Conjunto de células não diferenciadas de uma planta obtida por meio de cultura de tecidos.

**Capacete** – Estrutura situada na extremidade 5' do mRNA, sendo o primeiro nucleotídeo uma metil guanosina, unindo-se às demais por uma ligação 5' → 5' fosfato só encontrado nos eucariontes.

**Caráter** – Conjunto de informações biológicas que identificam os indivíduos.

**Caráter qualitativo** – Aqueles que apresentam distribuição descontínua.

**Caráter quantitativo** – Aqueles que apresentam distribuição contínua.

**Cariótipo** – Representação de todos os cromossomos constituintes de um genoma considerando a sua morfologia, principalmente tamanho e posição do centrômero.

**Cauda de poli A** – Segmento de RNA formado somente com nucleotídeo que contém adenina e que é adicionado na extremidade 3' do mRNA após a transcrição.

**cDNA** – É o DNA transcrito a partir de um RNA usando a enzima transcriptase reversa.

**Centimorgan** – (cM) Unidade de distância entre genes localizados em um mesmo cromossomo e que representa a frequência de recombinação entre os mesmos.

**Célula somática** – Todas as células de um organismo, exceto os gametas.

**Centrômero** – Constrição primária dos cromossomos. Região onde ocorre o cinetócoro no qual se prendem as fibras do fuso durante as divisões celulares.

**Ciclo celular** – Conjunto de eventos que incluem a intérfase e a divisão celular.

**Cis** – Aminoácido cisteína.

**Cistron** – Sequência de DNA que codifica uma cadeia polipeptídica - unidade de função genética.

**Citocinese** – Denominação dada ao processo de divisão do citoplasma no final da divisão celular.

**Citogenética** – Ramo da biologia que estuda as estruturas e mecanismos celulares associados à genética.

**Citologia** – Ramo da biologia que estuda a estrutura e funções celulares.

**Citoplasma** – Material entre as membranas nuclear e plasmática. Inclui a parte fluída, as organelas e as estruturas macromoleculares.

**Citosina** – Base nitrogenada pirimídica que ocorre nos ácidos nucléicos e pareia-se com a guanina quando a molécula tem duas fitas complementares.

**Clone** – Um grupo de células ou indivíduos geneticamente idênticos derivados por multiplicação assexuada de um ancestral comum.

**Clone de DNA** – Fragmento de DNA que foi inserido em um vetor, tal como um plasmídeo ou cromossomo de um fago, passando a se replicar para produzir várias cópias.

**Cloroplasto** – Organela celular, encontrada nos vegetais, que está envolvida com a fotossíntese.

**Código degenerado** – Propriedade do código genético em que um mesmo aminoácido pode ser codificado por mais de um códon.

**Código genético** – É o processo pelo qual a informação presente no DNA é utilizada para ordenar os diferentes aminoácidos na síntese de uma cadeia polipeptídica, por meio das 64 trincas possíveis arranjadas a partir dos quatro diferentes nucleotídeos do mRNA.

**Codominância** – É um tipo de interação em que ambos os alelos expressam separadamente seus produtos – enzimas – na produção do fenótipo do heterozigoto.

**Códon** – Sequência de três nucleotídeos no mRNA que codifica um determinado aminoácido.

**Códon sem sentido** – As trincas UAA, UAG e UGA que não codificam nenhum aminoácido. Sua ocorrência no mRNA determina o final da tradução.

**Coefficiente de correlação** – Simbolizado pela letra  $r$ , é uma medida estatística do grau de associação entre duas variáveis.

**Coefficiente de sedimentação** – Unidade da velocidade de sedimentação de partículas que considera o seu formato e sua massa. A unidade é simbolizada por S de Svedberg.

**Coefficiente de seleção ( $s$ )** – Excesso ou deficiência proporcional de adaptabilidade de um genótipo em relação a outro.

**Coincidência** – A proporção de duplas permutas esperadas que são observadas.

**Colchicina** – Alcaloide que interfere no processo de divisão celular impedindo a formação das fibras do fuso. É usada principalmente para induzir a poliploidia.

**Colinearidade** – Diz-se da correspondência entre a sequência linear de nucleotídeos do DNA e da sequência linear de aminoácidos em um polipeptídeo.

**Complexo sinaptonêmico** – Estrutura que é formada entre os cromossomos homólogos, permitindo o pareamento de regiões exatamente correspondentes.

**Configuração cis** – Veja atração.

**Configuração trans** – Veja repulsão.

**Conjugação bacteriana** – Forma de recombinação entre bactérias, em que há troca de material genético por meio de contato físico entre as bactérias receptoras e doadoras do DNA.

**Conjunto gênico** – O total de informação genética dos indivíduos de uma população.

**Consanguinidade** – Fenômeno que caracteriza indivíduos que possuem pelo menos um ancestral comum.

**Covariância** – Parâmetro estatístico utilizado para a estimativa da variação simultânea de duas variáveis.

**Crescimento** – Aumento de tamanho dos organismos. Nos eucariontes é devido principalmente ao incremento no número de células via processo mitótico.

**Cromátide** – Cada um dos dois filamentos de um cromossomo duplicado que são observados durante as divisões celulares e que estão unidos por um centrômero comum.

**Cromatina** – Material nuclear que constitui os cromossomos descondensados, isto é, na interfase. É uma nucleoproteína que se cora com facilidade em presença de corantes ácidos.

**Cromômero** – Pequenas regiões mais condensadas distribuídas ao longo dos cromossomos e observadas no início do processo meiótico.

**Cromossomo** – Estrutura nucleoprotéica situada no núcleo e observada durante as divisões celulares, e onde se situam os genes nucleares, numa disposição linear. Cada espécie possui um número que lhe é peculiar.

**Cromossomo acrocêntrico** – Veja acrocêntrico.

**Cromossomo dicêntrico** – São cromossomos com dois centrômeros. Eles ocorrem temporariamente e normalmente são produtos da permuta na região invertida de indivíduos heterozigóticos para a inversão.

**Cromossomos homeólogos** – Cromossomos que são parcialmente homólogos.

**Cromossomos homólogos** – São cromossomos que apresentam a mesma morfologia e são portadores dos mesmos genes. Pareiam-se durante o processo meiótico e entre os quais ocorre a permuta.

**Cromossomos sexuais** – Cromossomos envolvidos na determinação do sexo.

**Cromossomo telocêntrico** – Veja telocêntrico.

**Cromossomo X** – Um dos cromossomos sexuais encontrado principalmente nos mamíferos.

**Cromossomo Y** – Um dos cromossomos sexuais responsável pela determinação do sexo masculino principalmente nos mamíferos.

**Cromossomo Z** – Um dos cromossomos sexuais encontrado principalmente em aves, alguns peixes e insetos.

**Cromossomo W** – Um dos cromossomos sexuais responsável pela determinação do sexo feminino principalmente em aves, alguns peixes e insetos.

**Crossing over** – Veja permuta genética.

**Cruzamento** – É o ato de se acasalar indivíduos previamente escolhidos.

**Cruzamento recíproco** – É aquele em que o genitor é usado ora como macho ora como fêmea. O cruzamento AA X aa é recíproco do cruzamento aa X AA.

**Cruzamento teste** – É um tipo de cruzamento cuja finalidade é identificar se um indivíduo desconhecido é homozigótico e comprovar a segregação ou a distribuição de dois ou mais genes. Para isso, cruza-se este indivíduo com um testador homozigótico para os alelos recessivos envolvidos no estudo.

**Cultivar** – Forma cultivada de alguma espécie. Em agricultura, é normalmente utilizada como sinônimo de variedade.

**Cultura de tecidos** – É o ato de promover o crescimento e desenvolvimento de tecidos ou órgão *in vitro* utilizando um meio de cultura apropriado.

## D

**Deficiência** – Perda de um segmento cromossômico que altera a sua estrutura.

**Deleção** – Perda de uma ou mais bases do DNA e que pode causar mutação.

**Deriva genética** – Alterações nas frequências alélicas decorrentes de amostragem deficiente em número de genótipos ou do modo em que eles são escolhidos na geração ancestral.

**Desnaturação** – Fenômeno de separação das fitas de um DNA de hélice dupla quando submetida a altas temperaturas ou tratamento químico.

**Desoxirribose** – Açúcar de cinco carbonos que participa da constituição do DNA.

**Desvio padrão** – Parâmetro estatístico que expressa o desvio médio de um conjunto de dados em torno da média. Corresponde à raiz quadrada da variância.

**Diacinese** – Conjunto de acontecimentos que caracterizam o final da prófase I da meiose, em que os cromossomos se encontram completamente condensados e os quiasmas terminalizados.

**Diferenciação** – É o ato de ativar ou desativar os genes no local certo e momento correto. A ativação significa que o gene foi transcrito e será traduzido em uma cadeia polipeptídica.

**Diferencial de seleção** – Diferença entre a média da população e a média dos indivíduos selecionados para serem os genitores da próxima geração.

**Dimorfismo** – Quando uma população apresenta indivíduos com duas formas ou dois fenótipos distintos, como o dimorfismo sexual: macho ou fêmea.

**Dimorfismo sexual** – Quando os indivíduos de uma espécie são unissexuais e distintos.

**DNA estranho** – DNA oriundo de um outro organismo de espécie diferente.

**Dioico** – Espécie em que cada indivíduo possui um único sexo.

**Diploide** – Indivíduo ou célula que possui um genoma em duplicata, ou seja, os cromossomos homólogos ocorrem aos pares.

**Diplóteno** – Uma das subdivisões da prófase I da meiose. É a fase em que aparecem os quiasmas.

**Disjunção** – Separação de cromátides ou cromossomos homólogos durante a anáfase.

**Distribuição contínua** – Ocorre quando um conjunto de fenótipos de um determinado caráter não forma classes distintas.

**Distribuição descontínua** – Ocorre quando um conjunto de fenótipos de um determinado caráter pode ser agrupado em classes distintas.

**Distribuição independente** – Ocorre quando dois ou mais genes estão situados em cromossomos diferentes, ou no mesmo cromossomo a uma distância de 50 cM ou mais, o que possibilita o comportamento aleatório dos mesmos durante a meiose.

**Distribuição normal** – É a propriedade de um conjunto de dados de se distribuírem simetricamente em torno da média. Isto é, o dado mais frequente tem o valor da média, enquanto os demais, com valores menores e maiores, decrescem em frequência à medida que se afastam da média.

**Divisão celular** – Ver meiose e mitose.

**DNA polimerase** – Enzimas envolvidas no processo de replicação do DNA.

**DNA prova** – Segmento de DNA de fita simples utilizado para identificar a sequência complementar, geralmente por autorradiografia, como empregado na técnica RFLP.

**DNA recombinante** – Molécula de DNA nova construída a partir de segmentos de DNA derivados de duas ou mais origens.

**DNA repetitivo** – Sequência de nucleotídeos que se repetem até um milhão de vezes por célula.

**DNA satélite** – Tipo de DNA altamente repetitivo e que se caracteriza por possuir densidade diferente do restante do DNA genômico.

**DNase ou Desoxirribonuclease** – Qualquer enzima que hidrolisa o DNA.

**Dominância completa** – Interação alélica em que o fenótipo do heterozigoto é o mesmo do homozigoto para o alelo dominante.

**Dominância incompleta** – Interação alélica em que o fenótipo do heterozigoto situa-se no intervalo estabelecido pelos fenótipos dos homozigotos.

**Duplicação** – Aberração cromossômica em que uma parte do cromossomo está repetida.

**Duplicação semiconservativa do DNA** – Processo de replicação do DNA em que cada uma das fitas de uma molécula funciona como molde para produzir a fita complementar. No final do processo, são geradas duas moléculas filhas idênticas.

## E

**Efeito materno** – Denominação dada ao fenômeno pelo qual o fenótipo dos filhos é determinado por elemento citoplasmático materno devido a seus genes nucleares.

**Eletroforese** – Técnica para a separação de moléculas, principalmente proteínas ou DNA, por meio de um campo elétrico em um gel.

**Emasculação** – Ato de eliminar os gametas masculinos antes da fecundação.

**Embrião** – Conjunto de células diferenciadas nos estádios iniciais do desenvolvimento derivadas do zigoto. Nos vegetais, constituem os primórdios da planta, possuindo esboçadas suas partes fundamentais: raiz, caule e folhas.

**Endogamia** – Fenômeno que corresponde à perda de vigor quando se acasalam indivíduos relacionados por ascendência. O máximo de endogamia ocorre com a autofecundação.

**Endomitose** – Duplicação dos cromossomos sem a consequente divisão celular.

**Endonuclease** – Enzima que corta o DNA no interior da cadeia.

**Endopoliploidia** – Aumento no número de genomas provocado pela replicação dos cromossomos sem a divisão celular.

**Endosperma** – Tecido triploide encontrado nas sementes de muitas angiospermas. É formado pela união dos dois núcleos polares do óvulo com um dos núcleos do gameta masculino.

**Enzimas de restrição** – Nucleases que reconhecem uma sequência específica no DNA promovendo o seu corte. São produzidas por bactérias como um mecanismo de defesa contra DNA estranho.

**Epigenético** – Processo pelo qual ocorre modificações no funcionamento do gene, mas que não são devidas a trocas na sequência de bases do DNA do organismo.

**Epistasia** – Interação não alélica em que a expressão de um gene é inibida por outro.

**Epistático** – Alelo de um gene que inibe a expressão de outro gene.

**Equilíbrio de Hardy-Weinberg** – Uma população está em equilíbrio quando as suas frequências alélicas e genotípicas, de um dado gene, não se alteram nas sucessivas gerações.

**Espécie** – Grupo de indivíduos que possui a capacidade de trocar alelos livremente entre si, porém não com indivíduos de outro grupo.

**Espécie autógamas** – Aquela em que as plantas se reproduzem predominantemente por autofecundação.

**Espécie alógamas** – Aquelas em que as plantas se reproduzem predominantemente por intercruzamento.

**Espermatozoide** – Denominação dada ao gameta masculino animal.

**Esterilidade** – Incapacidade de o indivíduo produzir descendentes.

**Esterilidade masculina** – Veja macho esterilidade.

**Esterilidade parcial** – Fenótipo de indivíduos heterozigóticos para certos tipos de aberrações cromossômicas, expresso como um número reduzido de gametas viáveis, apresentando fertilidade reduzida.

**Estrutura primária do DNA** – É a sequência linear de nucleotídeos na molécula de DNA.

**Estrutura secundária da proteína** – Dobramento da cadeia polipeptídica por meio de pontes de hidrogênio entre aminoácidos próximos.

**Estrutura secundária do DNA** – É a associação das duas fitas em forma helicoidal estabilizadas por pontes de hidrogênio.

**Estrutura terciária da proteína** – Dobramento da estrutura secundária da proteína para formar uma molécula funcional.

**Eucarionte** – Células que apresentam núcleo e organelas diferenciadas. Organismo constituído por essas células.

**Eucromatina** – Regiões da cromatina que se encontram menos condensadas e, por isso, coram-se mais levemente. Acredita-se serem as regiões onde estão situados os genes ativos.

**Euploide** – Célula que apresenta um genoma ou várias cópias deste. Organismo constituído por essas células.

**Éxon** – A porção dos genes dos eucariontes que é traduzida em uma cadeia polipeptídica.

**Exonuclease** – Enzima que degrada o DNA a partir das extremidades da molécula.

**Expressividade** – Modo de expressão do gene. Pode ser uniforme ou variável.

## F

$F_1$  – Primeira geração filial proveniente do acasalamento de genitores homozigóticos.

$F_2$  – Segunda geração filial proveniente do intercruzamento ou autofecundação de indivíduos da geração  $F_1$ .

Genética na Agropecuária

$F_n$  – Enésima geração proveniente da autofecundação de indivíduos da geração  $F_{n-1}$ .

**Fago** – Veja bacteriófago.

**Família** – Grupo de indivíduos diretamente relacionados por descender de um ou mais ancestrais comuns.

**Fase S** – Parte da intérfase do ciclo celular quando ocorre a síntese de DNA.

**Fenocópia** – Fenótipo induzido por fatores ambientais e semelhante a outro determinado geneticamente.

**Fenótipo** – Formas alternativas de expressão de uma característica. Essa expressão depende do genótipo e do ambiente.

**Fenótipo recessivo** – Fenótipo de um indivíduo homozigótico para o alelo recessivo.

**Fertilidade** – Capacidade de um indivíduo produzir descendentes viáveis.

**Fertilização** – União dos núcleos dos gametas masculino e feminino.

**Fixação alélica** – Numa população ocorre fixação quando a frequência do alelo é igual a um. Nesse caso, todos os indivíduos são homozigóticos para aquele alelo.

**f.Met** – Metionina formilada no radical amina. É o primeiro aminoácido adicionado durante a síntese protéica em procariontes.

**Fragmento acêntrico** – Segmento de um cromossomo desprovido de centrômero.

**Fragmentos ou peças de Okazaki** – Pequenos fragmentos de DNA formados durante a replicação descontínua de uma das fitas da molécula.

**Frequência alélica** – Proporção de um determinado alelo em uma certa população.

**Fusão de protoplastos** – Fusão de células, de organismos distintos, após retiradas suas paredes.

**Fuso** – Conjunto de fibras microtubulares que são formadas a partir do centrômero para mover os cromossomos durante a divisão.

## G

**Gameta** – Célula reprodutiva que normalmente contém metade dos cromossomos característicos da espécie.

**Gametogênese** – Mecanismos que promovem a produção dos gametas.

**Garfo de replicação** – Local onde as duas fitas de DNA são separadas para permitir a replicação de cada uma delas.

**Gêmeos** – Denominação dos descendentes oriundos de um mesmo parto, em indivíduos de espécies que normalmente produzem um único descendente por gestação.

**Gene** – Segmento de DNA, situado numa posição específica de um determinado cromossomo, que participa da manifestação fenotípica de um certo caráter.

**Gene estrutural** – Gene que codifica a sequência de aminoácidos de uma cadeia polipeptídica.

**Gene ligado ao sexo** – Gene localizado no cromossomo sexual.

**Gene modificador** – Gene que afeta a expressão de outro gene.

**Gene repórter** – Gene cuja expressão fenotípica é fácil de ser monitorada e que é usado para identificar a presença de transgenes.

**Genes reguladores** – Genes que estão envolvidos com o processo de ligar ou desligar a transcrição de genes estruturais.

**Genes ligados** – São aqueles situados no mesmo cromossomo e que apresentam segregação dependente por se situar a menos de 50 cM.

**Genética** – Ciência que estuda a hereditariedade e a variação.

**Genética qualitativa** – Ramo da genética que estuda os caracteres que apresentam distribuição descontínua.

**Genética molecular** – Parte da genética que estuda a base molecular da estrutura e funcionamento do material genético.

**Genética quantitativa** – Ramo da genética que estuda caracteres que apresentam distribuição contínua.

**Genitor** – Indivíduo envolvido na produção de uma descendência.

**Genoma** – Conjunto haploide de cromossomos portando todos os genes de uma espécie.

**Genótipo** – Constituição genética de um indivíduo.

**Germoplasma** – Em um sentido mais restrito germoplasma é o conjunto de linhagens, híbridos ou populações melhoradas que são preservadas para utilização em programas de melhoramento.

**Ginandromorfos** – Indivíduos com partes masculinas e femininas.

**Ginoico** – Expressão sexual observada em algumas espécies em que as plantas só produzem flores femininas.

**Gln** – Aminoácido glutamina.

**Glu** – Aminoácido ácido glutâmico.

Genética na Agropecuária

**Gly** – Aminoácido glicina.

**Grupo de ligação** – Conjunto de genes existentes em um determinado cromossomo.

**Guanina** – Base nitrogenada purínica que ocorre nos ácidos nucléicos e que se pareia com a citosina quando a molécula tem duas fitas complementares.

## H

**Haploide** – Células que possuem o número básico de cromossomos. Organismos portadores dessas células.

**Hardy-Weinberg** – Veja equilíbrio de Hardy-Weinberg.

**Hemizigoto** – Condição na qual o indivíduo diploide é portador de apenas um dos alelos de um gene. Pode ocorrer no caso de herança ligada ao sexo ou em consequência de deleção.

**Hemoglobina** – Proteína sanguínea responsável pelo transporte de oxigênio na maioria dos animais.

**Herança citoplasmática** – Veja herança extracromossômica.

**Herança cruzada** – É um caso especial de transmissão de genes ligados ao cromossomo X ou Z em que o fenótipo do pai se manifesta nas filhas e o da mãe se manifesta nos filhos.

**Herança extracromossômica** – Herança determinada por genes de DNA situados em organelas citoplasmáticas como os cloroplastos e mitocôndrias.

**Herdabilidade no sentido amplo** – Proporção da variação fenotípica que é devida a causas genéticas.

**Herdabilidade no sentido restrito** – Proporção da variância fenotípica que é devida à variância genética aditiva.

**Hereditabilidade** – Fenômeno pelo qual os descendentes se assemelham aos seus ascendentes.

**Heredograma** – Veja pedigree.

**Hermafrodita** – Espécie vegetal em que os órgãos masculinos e femininos ocorrem na mesma flor. É usado também no caso de animais em que um indivíduo é portador dos órgãos sexuais masculino e feminino.

**Heterocário** – São células constituídas de núcleos diferentes em um único citoplasma.

**Heterocromatina** – Regiões da cromatina mais densamente condensadas e que se coram com maior intensidade. Acredita-se que sejam geneticamente inertes.

***Heterocromatina constitutiva*** – Regiões específicas de heterocromatina que sempre se mantêm condensadas nos cromossomos homólogos.

***Heterocromatina facultativa*** – Heterocromatina localizada em posições que são eucromáticas em outros indivíduos da mesma espécie, ou mesmo em cromossomos homólogos.

***Heterogamético*** – Indivíduo que produz gametas diferentes com relação aos cromossomos sexuais.

***Heterose*** – Desempenho superior do híbrido em relação à média dos genitores.

***Heterozigoto*** – Indivíduo que apresenta alelos diferentes de um mesmo gene.

***Hexaploide*** – Célula ou indivíduo cujo núcleo contém seis cópias do genoma.

***Hibridação*** – Processo de obtenção de híbridos.

***Hibridação somática*** – Processo de hibridação mediante a fusão de protoplastos.

***Híbrido*** – Indivíduo resultante do acasalamento de dois genitores com genótipos diferentes.

***Hipostático*** – Gene que é inibido por um alelo de outro gene.

***His*** – Aminoácido histidina.

***Histona*** – Proteína básica que se associa à molécula de DNA nos eucariontes para formar a cromatina.

***hnRNA*** – Veja RNA heterogêneo nuclear.

***Homogamético*** – Indivíduo que produz gametas iguais com relação aos cromossomos sexuais.

***Homólogo*** – Veja cromossomos homólogos.

***Homozigoto*** – Indivíduo que apresenta alelos iguais.

***Hospedeiros*** – Em engenharia genética, consideram-se como hospedeiras as células receptoras do DNA a ser clonado.

## I

***Idiograma*** – Representação diagramática do cariótipo de um organismo.

***Ile*** – Aminoácido isoleucina.

***Incompatibilidade*** – Mecanismos genético-fisiológicos que tornam impossível ou extremamente difícil a fertilização.

***Indutor*** – Substância responsável para ativar a transcrição de outros genes.

***Inibidor*** – Veja epistático.

***Interação alélica*** – Ação combinada dos alelos de um mesmo gene em um heterozigoto que resulta na expressão de seu fenótipo.

***Interação gênica*** – Veja interação não alélica.

***Interação não alélica*** – Ação combinada de alelos de genes diferentes que participam da expressão fenotípica de um caráter.

***Intercinese*** – Período entre as duas divisões da meiose observada em alguns organismos. Nessa fase não ocorre síntese de DNA, apenas de RNA.

***Intérfase*** – Sequência de eventos que ocorre entre o final de uma divisão celular e o início da outra.

***Interferência*** – Influência de permuta genética em um local sobre a ocorrência de outra nas proximidades e corresponde à proporção de permutas duplas esperadas que não são observadas.

***Interferon*** – Grupo de proteínas que aumenta a resistência de células animais a muitos vírus. São sintetizadas e secretadas pelas células após a infecção virótica.

***Intersexo*** – Indivíduos pertencentes a espécies bissexuais que apresentam características sexuais intermediárias entre o macho e a fêmea.

***Introgressão*** – Genes introduzidos em uma espécie, provenientes de outra espécie relacionada, geralmente por meio de retrocruzamentos.

***Íntron*** – Segmento do gene dos eucariontes que é transcrito e que é parte do hnRNA, porém é eliminado durante o processamento para formar o mRNA, não sendo, portanto, traduzido.

***Inversão cromossômica*** – Cromossomo com inversão é aquele com certa sequência de genes em ordem invertida em relação ao cromossomo normal.

***In vitro*** – Ambiente fora do corpo do organismo utilizado para se realizar funções biológicas.

***Isoenzima*** – Proteína formada por duas ou mais cadeias polipeptídicas diferentes, as quais ocorrem em proporções variadas, gerando moléculas alternativas estruturalmente equivalentes, porém, funcionalmente diferentes.

***Isolamento reprodutivo*** – Barreiras que impedem ou restringem o fluxo gênico entre populações.

**L**

***Leptóteno*** – A primeira subdivisão da prófase I da meiose, quando os cromossomos estão em início de condensação.

***Leu*** – Aminoácido leucina.

***Ligação*** – Veja genes ligados.

***Ligação peptídica*** – Ligação química que se forma entre o radical amino de um aminoácido e o radical carboxila do seguinte, durante a síntese de uma cadeia polipeptídica.

***Ligase*** – Enzima que catalisa a união de dois segmentos de DNA.

***Linhagem*** – Indivíduo ou grupo de indivíduos com um único genótipo homozigótico em todos os locos.

***Linha pura*** – Ver linhagem.

***Lise*** – Destruição de uma célula bacteriana após a infecção e multiplicação de um bacteriófago para a liberação de sua progênie.

***Lys*** – Aminoácido lisina.

***Loco*** – Local no cromossomo onde se localiza um determinado gene.

**M**

***Macho esterilidade*** – Ausência ou não funcionamento do pólen em plantas.

***Mapa genético*** – Idiograma representando a posição relativa dos genes ao longo dos cromossomos. Nestes mapas, as distâncias entre dois genes correspondem à frequência de recombinação entre eles.

***Mapa molecular*** – Disposição de fragmentos de DNA ao longo dos cromossomos de uma espécie, de acordo com as frequências de recombinação estimadas entre eles.

***Marca genética*** – Gene marcador. Alelo usado para identificar a presença de alelos de outros genes ou fenótipo de interesse. É usado como uma prova experimental para verificar a ocorrência de cruzamento ou a inserção de um transgene nas células ou tecidos.

***Meiócito*** – Célula que se diferenciou para sofrer meiose. Recebe denominações específicas em animais e vegetais e de acordo com o sexo - espermátócito em animais do sexo masculino, ovócito em animais do sexo feminino; microsporócito na flor masculina; e megasporócito na flor feminina.

**Meiose** – Processo de divisão celular responsável pela formação dos gametas. Caracteriza-se por promover a redução do número de cromossomos da espécie à metade.

**Melhoramento genético** – Arte e ciência para alterar geneticamente as plantas e animais de modo a atender às necessidades do homem.

**Mendelismo** – Denominação dada aos procedimentos que explicam a herança de caracteres como segregação e distribuição independente.

**Meristema** – Tecido vegetal onde ocorre uma ativa taxa de divisão mitótica.

**Mestiço** – Animal ou população de animais descendentes do cruzamento de indivíduos de raças diferentes.

**Met** – Aminoácido metionina.

**Metacêntrico** – Cromossomo que possui o centrômero na posição mediana dividindo-o em dois braços de tamanhos aproximadamente iguais.

**Metáfase** – Uma das fases da divisão celular quando os cromossomos ficam alinhados na posição equatorial da célula e presos às fibras do fuso.

**Metilação** – Alteração de uma molécula de ácido nucléico ou proteína pela adição de um grupo metil.

**Micrômetro (mm)** – Unidade de medida comumente usada em microscopia; é igual a  $1 \times 10^6$  metro, ou  $1 \times 10^{-3}$  milímetro. Sinônimo antigo: micron.

**Migração** – Movimento de indivíduos de uma população para outra, podendo alterar as frequências alélicas da nova população.

**Mitose** – Processo de divisão celular responsável pelo aumento do número de células nos tecidos somáticos. Caracteriza-se pela produção de células filhas idênticas à célula mãe.

**Molde** – Fita de DNA que serve para determinar a sequência de nucleotídeos de outra fita que está sendo sintetizada ou que será transcrita.

**Monoicas** – Espécies de plantas que possuem flores masculinas e femininas separadas, porém no mesmo indivíduo.

**Monoplóide** – Veja haplóide.

**Monossômico** – Tipo de aneuplóide em que falta um dos seus cromossomos. É representado por  $2x - 1$ .

**Mosaico** – Indivíduo que apresenta diferentes fenótipos em função de possuir dois ou mais tipos de células geneticamente diferentes.

**Mosaico sexual** – Veja ginandromorfos.

**mRNA** – Sigla do RNA mensageiro que é traduzido para originar uma cadeia polipeptídica. Nos eucariontes é proveniente do processamento do hnRNA.

**mRNA monocistrônico** – Molécula de mRNA que codifica apenas uma cadeia polipeptídica.

**mRNA policistrônico** – Molécula de mRNA que codifica mais de um tipo de cadeia polipeptídica.

**mtDNA** – DNA mitocondrial.

**Mutação** – Processo responsável pela produção de novos alelos por meio da alteração na sequência de bases do DNA.

**Mutação de sentido errado** – Processo que produz um alelo mutante que codifica uma cadeia polipeptídica com propriedades diferentes da original, ocasionando uma alteração fenotípica.

**Mutação espontânea** – Alteração da sequência de nucleotídeos da molécula de DNA por causas desconhecidas.

**Mutação neutra** – Processo que produz um alelo mutante que codifica uma cadeia polipeptídica com propriedades semelhantes às do alelo original, não ocasionando alteração fenotípica e na adaptação do indivíduo.

**Mutação reversa** – Mutação no alelo mutante reconstituindo o alelo original

**Mutação sem sentido** – Mudança na sequência de nucleotídeos do DNA, resultando na formação de um códon que não codifica nenhum aminoácido. Provoca assim a terminação prematura da cadeia polipeptídica.

**Mutação silenciosa** – Mudança na sequência de nucleotídeos do DNA, resultando na formação de um códon que codifica o mesmo aminoácido do códon anterior, em razão da degenerescência do código genético.

**Mutação somática** – Mutação que ocorre nos alelos presentes nas células somáticas.

**Mutagênico** – Qualquer agente, químico ou físico, capaz de promover mutações.

**Mutante** – Uma célula ou organismo portador de alelos provenientes de mutação.

## N

**Nanômetro (nm)** – Unidade de medida de comprimento igual a  $1 \times 10^{-9}$  metro. Sinônimo: milimícron.

**Não disjunção cromossômica** – Quando os cromossomos homólogos não se separam durante a anáfase I da meiose.

**Nucela** – Tecido somático formado na parede interna do ovário.

**Núcleo** – Organela celular onde está situada a maioria das informações hereditárias.

**Nucléolo** – Estrutura formada no núcleo e que contém rRNA.

**Nucleoproteína** – Estrutura formada de ácido nucléico e proteína e que constitui os cromossomos.

**Nucleossomo** – Primeira unidade de condensação da cromatina. Contém aproximadamente 200 pares de nucleotídeos associados a oito moléculas de histonas.

**Nucleosídeo** – Molécula orgânica constituída de uma base nitrogenada, ligada a uma pentose.

**Nucleotídeo** – Monômero dos ácidos nucléicos constituído de uma base nitrogenada, uma pentose e um grupo fosfato.

**Nulissômico** – Aneuploide em que há perda de todos os cromossomos de um determinado tipo. Nos diploides tem a forma  $2x - 2$ .

**Número básico de cromossomos (x)** – Número gamético de cromossomos nas espécies diplóides ancestrais dos poliploides.

## O

**Oligonucleotídeo** – Pequeno segmento de ácido nucléico sintético.

**Ontogenia** – Histórico do desenvolvimento completo de um organismo a partir do zigoto.

**Operador** – Segmento de DNA em uma extremidade do operon que corresponde ao local de união da proteína repressora.

**Operon** – Conjunto de sítios regulatórios da transcrição e de cístrons que são transcritos em uma única molécula de mRNA.

**Organela** – Estrutura celular possuindo membrana e que apresenta funções específicas.

**Organismo transgênico** – Indivíduo que recebe um ou mais genes de outro organismo sexualmente incompatível.

**Organizador nucleolar** – Constrição secundária de alguns cromossomos dos eucariontes, onde estão localizados os genes que codificam para os rRNAs. Também denominada de região organizadora do nucléolo.

**Origem de replicação** – Sequência específica onde inicia a replicação do DNA.

**Oscilação genética** – Mudanças aleatórias nas frequências alélicas que ocorrem predominantemente em populações pequenas em consequência de erro amostral.

**Óvulo** – Nos animais, é a célula sexual feminina formada no ovário. Nos vegetais, é um corpúsculo encontrado no interior do ovário, dentro do qual ocorre a célula sexual feminina, oosfera, que ao ser fertilizada, desenvolve-se na semente.

## P

**P** – A geração parental em um determinado cruzamento.

**Panmítica** – População grande que se reproduz por acasalamento ao acaso.

**Paquíteno** – Uma das subdivisões da prófase I, quando os cromossomos homólogos encontram-se completamente pareados formando os bivalentes. Acredita-se que nessa fase ocorra a permuta genética.

**Partenogênese** – Desenvolvimento de um indivíduo a partir de um óvulo não fertilizado.

**Paterno** – Concernente ao pai.

**Patógeno** – Organismo que causa doença.

**PCR** – Sigla de Polymerase Chain Reaction, corresponde à reação de polimerização em cadeia, e é um método utilizado para amplificar, *in vitro*, uma sequência específica de DNA.

**Pedigree** – Diagrama que mostra a história ancestral de um indivíduo.

**Penetrância** – Frequência com que um alelo se expressa fenotipicamente nos indivíduos que o possuem.

**Peptídeo** – Molécula constituída de aminoácidos.

**Permuta desigual** – Permuta genética entre cromossomos homólogos que não estão perfeitamente pareados.

**Permuta genética** – Mecanismo que possibilita a recombinação de genes ligados por meio da troca de partes entre cromátides não irmãs de cromossomos homólogos.

**Phe** – Aminoácido fenilalanina.

**Pirimidina** – Base nitrogenada, sendo as mais comuns nos ácidos nucléicos a timina, citosina e uracila.

**Plamídeo Ti** – Segmento circular de DNA encontrado em *Agrobacterium tumefaciens*, o qual possui propriedades de se inserir no cromossomo da planta hospedeira, possibilitando, assim, o seu uso como vetor na engenharia genética.

**Plasmídios** – Pequenos segmentos de DNA que se replicam autonomamente em células de procariontes e eucariontes. É usado como vetor na engenharia genética.

**Pleiotropia** – Fenômeno pelo qual um gene afeta várias características.

**Pleiotropia sidrômica** – Fenômeno pelo qual um gene afeta um caráter e este interfere na expressão de vários outros, dando origem a uma síndrome.

**Pólen** – Estrutura que contém o gameta masculino das plantas que florescem.

**Poligenes** – São genes com pequeno efeito em um caráter particular, podendo complementar uns aos outros provocando alterações quantitativas mensuráveis.

**Polimorfismo** – Ocorrência na população de vários fenótipos de um caráter associados com diferentes alelos de um gene, ou polimorfismo de fragmentos de DNA.

**Polinucleotídeo** – Ácido nucléico constituído de vários nucleotídeos.

**Polipeptídeo** – Cadeia de aminoácidos ligados.

**Poliploide** – Célula que possui um ou mais genomas repetidos várias vezes. Organismo que possui essas células.

**Polirribossomo** – Veja polissomo.

**Polissomo** – Conjunto de vários ribossomos associados a um mRNA.

**População** – Conjunto de indivíduos da mesma espécie que apresentam continuidade no tempo e possuem a capacidade de se interacasalarem ao acaso e, portanto, de trocarem alelos entre si.

**Primeira lei de Mendel** – Veja segregação.

**Pro** – Aminoácido prolina.

**Probabilidade** – A probabilidade de ocorrência de um evento é dada pelo número esperado de vezes que esse evento ocorre em relação ao número total de eventos.

**Procarionte** – Célula sem núcleo e organelas diferenciadas.

**Prófase** – Primeiro estágio da divisão celular, quando se nota no núcleo uma condensação progressiva da cromatina, que se transforma em cromossomos visíveis e individualizados.

**Progênie** – O mesmo que descendência.

**Progresso com a seleção** – É obtido pelo produto do diferencial de seleção ( $ds$ ) e a herdabilidade ( $h^2$ ).

**Prole** – Veja progênie.

**Promotor** – Veja sítio promotor

**Proteína** – Molécula formada por uma ou mais cadeias polipeptídicas.

**Proteína repressora** – Molécula protéica que se liga ao sítio operador e impede a transcrição de um operon.

**Protoplasto** – Parte viva da célula, isto é, célula cuja parede foi removida.

**Pseudodominância** – Dominância aparente de um alelo recessivo, quando este se encontra sozinho no indivíduo, em consequência de deficiência cromossômica.

**Purina** – Base nitrogenada, sendo a guanina e adenina as mais comuns nos ácidos nucleicos.

**Puro** – Veja homocigoto.

## Q

**QTL** – Locus de um caráter quantitativo identificado por marcadores moleculares.

**Quadro de Punnett** – Método tabular utilizado para determinar os genótipos descendentes a partir da fusão dos gametas de seus genitores.

**Quiasma** – Pontos de contato entre cromátides não irmãs e que representam os locais onde ocorreu a permuta genética.

**Qui-quadrado** – Simbolizado por  $\chi^2$ . Ver teste de  $\chi^2$

**Quilobase (kb)** – Unidade de comprimento dos ácidos nucleicos que equivale a mil nucleotídeos em moléculas de fita simples ou a mil pares de nucleotídeos em moléculas de fita dupla.

**Quimera** – Veja mosaico.

## R

**Raça** – Subpopulação com características distintas e que mantém a capacidade de trocar alelos com indivíduos de outras raças.

**Raça fisiológica** – Termo empregado para fungos patogênicos e indica diferentes grupos de virulência.

**Raça pura** – Termo utilizado pelos criadores de animais para caracterizar as populações com expressões fenotípicas dentro dos padrões raciais exigidos pelas normas de registro da raça. Não corresponde ao termo genético homocigose.

**RAPD** – (Random Amplified Polymorphic DNA) Polimorfismo de fragmentos de DNA aleatoriamente amplificados.

**Reanelamento** – Ligação espontânea de duas fitas de DNA para formar um DNA de fita dupla que havia sido desnaturado.

**Recessivo** – Alelo que não se expressa no heterozigoto.

**Recombinação** – Processo meiótico que resulta na formação de novas combinações genéticas.

**Recombinante** – Um indivíduo ou célula cujo genótipo é produzido por recombinação.

**Renaturação** – Reassociação de fitas simples complementares de DNA restaurando a hélice dupla.

**Replicação semi-conservativa** – Processo de síntese de DNA em que cada uma das fitas de uma molécula funciona como molde para produzir a fita complementar. No final do processo, são geradas duas moléculas filhas idênticas. Ver *duplicação semiconservativa*.

**Replicon** – Segmento de DNA que se replica a partir de uma origem de replicação.

**Repressão catabólica** – A inativação do operon causada pela presença de grande quantidade do produto metabólico produzido pelo operon.

**Reprodução assexual** – Veja assexuada.

**Repulsão** – Quando em um cromossomo estão presentes o alelo dominante de um gene e o recessivo de um segundo gene.

**Retrocruzamento** – Cruzamento de um indivíduo com um dos seus genitores.

**RFLP** – (Restriction Fragment Length Polymorphism) Polimorfismo de comprimento de fragmentos de DNA, resultante da fragmentação de DNA genômico por meio de enzimas de restrição.

**Ribose** – Açúcar de cinco carbonos encontrado em cada nucleotídeo que participa do RNA.

**Ribossomo** – Estrutura com duas subunidades macromoleculares constituídas de RNA e proteína. Local onde se realiza a biossíntese protéica.

**RNA** – Veja ácido ribonucleico.

**RNA heterogêneo nuclear** – É uma molécula de RNA transcrita da fita anti-senso do alelo nos eucariontes.

**RNA polimerase** – Enzima que catalisa a síntese de uma molécula de RNA utilizando uma das fitas do DNA como molde.

**rRNA** – RNA que participa da constituição dos ribossomos.

## S

**S(Svedberg)** – Veja coeficiente de sedimentação.

**Saco embrionário** – Célula proveniente de meiose localizada no óvulo vegetal, que possui oito núcleos oriundos de endomitose, sendo duas sinérgidas, três antípodas, dois núcleos polares e a oosfera que é o gameta feminino.

**Satélite** – Parte terminal de um cromossomo, separado da sua parte principal por uma estreita constrição.

**Segregação** – Separação dos cromossomos homólogos na anáfase I da meiose ou das cromátides irmãs na anáfase II. Nos indivíduos diploides, resulta na formação de gametas contendo apenas um dos alelos de cada gene.

**Segregação Adjacente** – Na meiose de indivíduos com translocações cromossômicas recíprocas, há passagem para cada pólo de um cromossomo normal e outro translocado.

**Segregação alélica** – Separação dos alelos durante a formação de gametas na anáfase II da meiose. Corresponde à separação das cromátides irmãs para os pólos opostos da célula. É o fundamento da primeira lei de Mendel.

**Segregação alternada** – Na meiose de indivíduos com translocações cromossômicas recíprocas, há passagem para um dos pólos da célula de ambos os cromossomos normais, e para o outro os cromossomos translocados.

**Segregação fenotípica** – Ocorrência de fenótipos diferentes na descendência de um indivíduo ou grupo de indivíduos.

**Segregação genotípica** – Ocorrência de genótipos diferentes na descendência de um indivíduo ou grupo de indivíduos.

**Segregação transgressiva** – Aparecimento em gerações segregantes de alguns indivíduos com fenótipos mais extremos do que os dos genitores.

**Segunda lei de Mendel** – Veja distribuição independente.

**Seleção artificial** – Seleção realizada pelo homem, permitindo a reprodução apenas dos indivíduos de seu interesse.

**Seleção natural** – Sucesso reprodutivo diferencial, isto é, nas populações, indivíduos com maior sucesso reprodutivo deixam maior número de descendentes.

**Sequência palindrômica** – Sequência de nucleotídeos do DNA que apresenta ordem idêntica das bases quando lida na mesma direção nas fitas complementares.

**Sequência sinal** – A sequência N-terminal de uma proteína secretada e que é necessária para o seu transporte através da membrana do retículo endoplasmático.

**Ser** – Aminoácido serina.

**Sexo homogamético** – Veja homogamético.

**Sinapse** – Pareamento dos cromossomos homólogos durante o zigóteno e paquíteno da meiose através do complexo sinaptonêmico.

**Sistema imune** – Células e tecidos animais responsáveis pelo reconhecimento e inibição de antígenos que penetram no seu corpo.

**Sítio ativo** – A parte da proteína que deve ser mantida em uma forma específica para ser funcional – Por exemplo, em uma enzima, é a parte onde o substrato se liga.

**Sítio A** – Local no ribossomo ocupado por tRNA carregando um aminoácido que será adicionado à cadeia polipeptídica em crescimento.

**Sítio P** – Local no ribossomo ocupado por um tRNA no qual está presa a cadeia polipeptídica em crescimento.

**Sítio promotor** – Sítio regulatório de tamanho pequeno, situado antes do início de transcrição e é o local onde liga-se a RNA polimerase.

**Solenóide** – Arranjo espiralizado do DNA em cromossomos eucarióticos produzidos pela espiralização de um conjunto de nucleossomos.

**Somático** – Veja tecido somático.

**Sonda** – Veja DNA prova.

**“Southern blot”** – Transferência de fragmentos de DNA, separados por eletroforese em um gel, para uma membrana especial.

**Substituição cromossômica** – É uma técnica que utiliza aneuploides e que consiste em substituir um simples cromossomo ou um par por outros, de indivíduos diferentes, por meio de retrocruzamentos sucessivos.

## T

**Tautômero** – Isômero espontâneo de uma base nitrogenada que altera as condições de formação de pontes de hidrogênio mudando as propriedades normais de pareamento, podendo levar à mutação.

**Tecido somático** – Formado por células provenientes da mitose.

**Telocêntrico** – Cromossomo cujo centrômero está situado em uma de suas extremidades. Nesse caso, o cromossomo apresenta apenas um braço.

**Telófase** – Última fase da divisão celular caracterizada, entre outras coisas, pela descondensação dos cromossomos e reaparecimento da membrana nuclear.

**Telômero** – As extremidades de um cromossomo.

**Terapia gênica** – A correção de uma deficiência genética na célula pela adição ou inserção de um novo segmento de DNA no genoma.

**Terminalização do quiasma** – Mudança do quiasma da sua posição original para a extremidade do cromossomo.

**Testador** – Indivíduo homocigótico para um ou mais alelos recessivos, usado em cruzamentos testes.

**Teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ )** – Teste estatístico não paramétrico utilizado para verificar se as frequências observadas ajustam-se às esperadas com base em uma hipótese.

**Teste dos três pontos** – Cruzamento teste envolvendo um genitor heterocigótico para três genes ligados.

**Tétrade** – Quatro células filhas haploides resultantes da meiose.

**Tetraploide** – Célula que contém quatro genomas. Organismo formado por essas células.

**Tetrassômico** – Tipo de aneuploide que possui quatro representantes de um mesmo cromossomo, sendo o restante do complemento diploide. É representado por  $2x + 2$ .

**Thr** – Aminoácido treonina.

**Timina** – Base nitrogenada pirimídica que ocorre no DNA e que se parecia com a adenina.

**Tipo selvagem** – Genótipo ou fenótipo que é mais encontrado na natureza para um dado organismo.

**Totipotência** – Fenômeno pelo qual uma célula é potencialmente capaz de originar um indivíduo semelhante àquele de onde ela foi retirada.

**Tradução** – Decodificação da informação existente na sequência de nucleotídeos do mRNA em uma sequência de aminoácidos da cadeia polipeptídica.

**Transcrição** – Processo de síntese de uma molécula de RNA utilizando uma das fitas de DNA como molde.

**Transcrição reversa** – Processo de síntese de DNA a partir de uma molécula de RNA.

**Transcritase reversa** – Enzima que catalisa a síntese de uma cadeia de DNA utilizando uma molécula de RNA como molde. Ocorre em alguns vírus.

**Transdução** – Recombinação genética em bactérias mediada por um bacteriófago.

**Transformação bacteriana** – Recombinação genética em bactérias onde um DNA exógeno é absorvido e incorporado ao genoma da célula.

**Transgene** – Gene preparado pela técnica do DNA recombinante para ser introduzido em outro organismo não relacionado.

**Transição** – Mutação no material genético causada pela substituição de uma purina por outra ou de uma pirimidina por outra.

**Translocação** – Movimento do ribossomo em relação ao mRNA durante a biossíntese protéica, resultando na transferência do polipeptídeo-tRNA do sítio A para o P.

**Translocação cromossômica** – Aberração estrutural em que um segmento de um cromossomo é transferido para outro local no mesmo cromossomo ou em outro não homólogo.

**Translocação recíproca** – Translocação de dois segmentos cromossômicos, em que cada cromossomo troca partes com outro cromossomo não-homólogo.

**Transversão** – Mutação no material genético causada pela substituição de uma purina por pirimidina, ou vice-versa.

**Trinca** – Veja códon.

**Triploide** – Célula que cont m três genomas. Organismo que cont m essas células.

**Trissômico** – Tipo de aneuploide que possui três representantes de um mesmo cromossomo, sendo o restante do complemento diploide. É representado por  $2x + 1$ .

**Tritium** – Isótopo radioativo do hidr g nio.

**tRNA** – RNA que transporta os aminoácidos durante a biossíntese de prot inas.

**Trp** – Aminoácido triptofano.

**Tyr** – Aminoácido tirosina.

## U

**Univalente** – Cromossomo não pareado durante o paquíteno.

**Uracila** – Base nitrogenada pirimídica que ocorre no RNA e pareia-se com a adenina nos segmentos de fita dupla.

## V

**Vaca maninha** – Fêmea de bovino, sexualmente não desenvolvida e g mea de um macho.

**Val** – Aminoácido valina.

**Variabilidade** – Capacidade de uma espécie, de uma população ou de uma progênie para expressar diferentes fenótipos.

**Variacão** – Diferenç as fenotípicas ou genotípicas entre indivíduos de uma população.

**Variacão ambiental** – Variação fenotípica que ocorre devido a diferenç as nas condições ambientais a que os indivíduos são submetidos.

**Variância** – Veja desvio padrão.

**Variável** – Em genética, corresponde aos diferentes fenótipos de um mesmo caráter.

**Varietade** – Taxonomicamente é uma subdivisão de espécie. Nas alógamas, é utilizada para identificar uma população cultivada em equilíbrio de ligação. Ver cultivares.

**Varietação** – Veja mosaico.

**Vetor** – Termo empregado na engenharia genética para designar os veículos utilizados para a introdução de um DNA exógeno em um hospedeiro.

**Viabilidade** – Probabilidade de o zigoto se desenvolver e atingir o estágio adulto.

## X

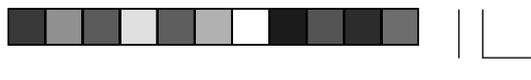
**Xênia** – Efeito do pólen nas expressões fenotípicas do embrião e do endosperma.

$\chi^2$  – Veja teste de qui-quadrado.

## Z

**Zigóteno** – Uma das subdivisões da prófase I da meiose, caracterizada pelo início do pareamento dos cromossomos homólogos.

**Zigoto** – Célula proveniente da fertilização.



# Bibliografia Complementar

ADAMS, J; ROTHMAN, ED; KERR, WE; PAULINO, ZL. Estimation of the number of sex alleles and queen matings from diploid male frequencies in a population of *Apis mellifera*. **Genetics**, 1977, v.86, p.583-596.

AGROANALYSIS. Um novo modelo para o agronegócio. Pecuária de corte: Brasil no mercado mundial. Revista de Agronegócios da FGV. Fundação Getúlio Vargas. v.28, n.12, p.18-20. 2008

ALLARD, R. W. **Princípios do melhoramento genético de plantas**. São Paulo: Edgar Blucher, 1971. 381 p.

AMORIM, E. P. **Produtividades de híbridos de milho derivadas de populações So e associadas com distâncias genéticas baseadas em microssatélites**. Lavras, Universidade Federal de Lavras, Tese de Doutorado em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas) 2005.

ASSIS T.F., MAFIA R.G. **Hibridação e clonagem**. In: A. BORÉM (ed). Biotecnologia Florestal. Viçosa. p 93-121, 2007.

AVTALION, R.R.; HAMMERMAN, I.S. Sex determination in *Sarotherodon* (Tilapia). In. Introduction to a theory of autosomal influence. **Bamidgeh**, Nir-David, v.30, n.4. p-110-115, 1978.

AZEVEDO, J.L. O melhoramento genético de microorganismos. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v.38, n.7, p.1161-1168, 1986.

AZEVEDO, N.A. et al. Transferência de embriões em bovinos. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.13, n.148, p.17-22, 1987.

AZEVEDO, VAC; DEL CARLO, RJ; FIQUEIREDO, JR de; VISINTIN, JA; MULLER, CA. Biotecnologia e biossegurança: o que mudou e precisa mudar para o país celeiro de alimentos do mundo. 56(4):451-454. 2009

BANDEL, G. **Genética**. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G.P. Melhoramento e produção de milho. Campinas: fundação Cargill, 1987. p.11-131.

BARD, J. As bases da piscicultura intensiva. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.4, n.39, p.32-54, mar. 1978.

BARTON, K.A.; BRILL, W.J. Prospects in plant genetic engineering. **Science**, Washington, v.219, n.4585, p.671-675, Feb. 1983.

BECKMANN, J.S.; SOLLER, M. Restriction fragment length polymorphisms and genetic improvement of agricultural species. **Euphytica**, Wageningen, v.5, n.1, p.111-124, mar. 1986.

BERNARDO, R. **Breeding for quantitative traits in plants**. Minnesota, Stema Press, 2002.

BEYE, M; HASSELMANN, M; FONDRK, MK; PAGE, RE; OMHOLT, SW. The gene *csd* is the primary signal for sexual development in the honey bee and encodes an SR-type protein. **Cell**, 2003, v.114, p.419-429.

BORLAUG, N.E. Contributions of conventional plant breeding to food production. **Science**, Washington, v.219, n.4585, p.689-693, 1983.

BOYER, J.S. Plant productivity and environment. **Science**, Washington, v.218, n.4571, p.444-448, Oct. 1982.

BRAUER, O. **Fitogenética aplicada**. México: Editorial Limusa, 1973, 518 p.

BREWBAKER, J. L. **Genética na agricultura**. São Paulo: Polígono, 1969, 217 p.

BRIDGES, CB. Sex in relation to chromosomes and genes. **Am. Nat.** v.59, p127-137. 1925.

BURNHAM, C. R. **Discussions in Cytogenetics**. St. Paul: University of Minnesota, 1980, 393 p.

BURNS, G. W. **An introduction to heredity**. 3. Ed. New York: Macmillan Publishing Company. 1983. 515 p.

CARDWELL, V. B. Fifty years of Minnesota corn productions: Sources of yield increase, **Agronomy Journal**, madison, v. 74, n.; p.984-990, 1982.

CARVALHO, A.; FAZUOLI, L.C. Café. In: FURLANI, A.M.C ; VIEGAS, G.P. **Melhoramento de plantas no Instituto Agrônômico**. Campinas: Instituto Agrônômico, 29-76 p, 1993.

CARVALHO, DC de; MOURÃO FILHO, FAA; MENDES, BMJ; CARVALHO, CR de. Regeneração de plantas após fusão de protoplastos de tangelo Page e toranja Lau Tau . **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, p. 329-332, 2007.

CASTLEBERRY, R.M.; CRUM, C.W.; KRULL, C.F. Genetic yield improvement of U.S. maize cultivars under varying fertility and climatic environments. **Crop Science**, Madison, v.24, n.1, p.33-36, Jan./Feb. 1984.

- CHALEFF, R.S. Isolation of agronomically useful mutants from plant cell cultures. **Science**, Washington, v.219, n.4585, p.676-682, Feb. 1983.
- CHALEFF, R.S. **Considerations of development biology for the plant cell geneticist**. In.: KOSUGE, T.; MEREDITH, C.P.; HOLLAENDER, A. (ed.). Genetic engineering of plants: an agricultural perspective. New York: Plenum, 1983. p.157-170.
- CHASTANT-MAILLARD, S; DRUAT, X. Sexagem de espermatozóide bovino. **A Hora Veterinária**, v.143, p.43-48, 2005.
- CHRISPEELS, MJ; SADAVA, DE. Plants, genes and crop biotechnology. 2ª Ed. United States of America. 1994. 562p.
- CIAT – International Center for Tropical Agriculture. **Bean Program Annual Report 1979**. Cali, 1980. 111 p.
- COLIN, E.C. **Elements of genetics**. 3º ed. New York: Mc.Graw-Hill Book, 1956, 98p.
- CONDE, M. F.; PRING, D. R.; LEVINGS, C. S. Maternal inheritance of organelle DNA's in *Zea mays* – *Zea perennis* reciprocal crosses. **The Journal of Heredity**. Washington, v.70, n.1, p.2-4, Jan./Feb. 1979.
- COSTA, S.O.P. (Coord.). **Genética molecular e de microorganismos – Os fundamentos da Engenharia Genética**, São Paulo: Manole, 1987, 559p.
- CROW, J.F. **Fundamentos de genética**. Rio de Janeiro: Editora Livros Técnicos e Científicos, 1978, 277 p.
- CROW, J.F.; KIMURA, M. **An introduction to population genetic theory**. New York: Harper and Row, 1970.
- CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1994, 360 p.
- DEL CARLO, ES; MONTEIRO, BS; NETO, NMA. Avanços no estudo de células tronco no Brasil e suas implicações. **Revista Ceres**. V.56, n.4, p.446-450. 2009.
- DESCHAMPS, J.C; LUCIA Jr T; CORRÊA, MN, MACEDO, MCJr; RHEINGANTZ, MGT. Otimização da eficiência do processo de produção animal a partir do uso de técnicas reprodutivas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.24, n.1, p21-24. 2000.
- DOBZHANSKY, T. **Genética do processo evolutivo**. São Paulo: Polígono, 1973. 453 p.
- DUARTE, J.M., J.B. DOS SANTOS, L.C. MELO. Genetic divergence among common bean cultivars from different races based on RADP markers. **Genetics and Molecular Biology**, v. 22, n. 3, p. 419-426, 1999.

DUVICK, D.N. Genetic contributions to advances in yield of U. S. maize. **Maydica**, Ames, v.37, p.69-79, 1992.

DUVICK, D.N. Progress in conventional plant breeding. In: GUSTAFSON, J.P. (ed.). **Gene manipulation in plant improvement**, New York: Plenum Press, 1984, 17-31 p.

DZIERZON, J. Gutachten über die von Herrn Direktor Stöhr im ersten und zweiten Kapitel des General-Gutachtens aufgestellten Fragen. **Eichstädter Bienenzeitung**, 1845, v.1, p.109–121.

EAST, EM. Studies on size inheritance in nicotina. **Genetics**. v.1, p.164-176. 1961.

EDWARDS, J.D.; MCCOUCH, S.R. Molecular markers for use in plant molecular breeding and germplasm evaluation. In: Guimarães, E.P. et al. **Marker-assisted selection**. Roma, FAO, p. 29-50, 2007.

EDWARDSON, J. R. Cytoplasmic male sterility. **Botanical Review.**, New York, v. 36, p.341-420, 1970.

ELSETH, G. D.; BAUMGARDNER, K. D. **Genetics**. Reading: Addison – Wesley Publishing Company, 1984, 780 p.

EVANS, L.T. Physiological aspects of varietal improvement. In: GUSTAFSON, J. P. (ed.). **Gene manipulation in plant improvement**, New York: Plenum Press, 1984, p.121-146.

FALCONER, D.D.; MACKAY, T.F.C. **Introduction to quantitative genetics**. 4ª Ed. Malásia: Lojman, 1996, 464 p.

FINCHAM, J. Self-incompatibility in plants. **Nature**. London, v.321, n.6065, may 1986, p.21.

Franklin, R.E.; R.G. Gosling. Molecular configuration in sodium thymonucleate. **Nature**, v. 171, p. 740-742, 1953.

FRAZER, K.A. et al. A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. **Nature**, v. 449, p. 851-861, 2007.

FREIRE MAIA, N. **Gregor Mendel. Vida e Obra**. Editora T.A. Queiroz, São Paulo. 1995, 97 p.

GARDNER, E.J. **Genética**. 5º Ed. Rio de Janeiro: Interamericana 1977, 503 p.

GARRET, R.H.; GRISHAM, C.M. **Biochemistry**. Filadélfia: Saunder College Publishing, 1995, 1100 p.

GRANT, V. **Genetics of flowering plants**. New York: Columbia University Press, 1975, 514 p.

GRIFFITHS, A.J.F. et al. **An introduction to genetic analysis**. 6ª edição. New York: W.H. Freeman and company, 1996, 916 p

GUERRA, M. S. **Introdução à citogenética geral**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988, 142 p.

GUSTAFSON, J. P. **Gene manipulation in plant improvement**. New York: Plenum Press, 1984, 668 p.

HAGIWARA, W.E., J.B. DOS SANTOS, S.L.M. CARMO. Use of RAPD to aid selection in common bean backcross breeding programs. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.1, p. 355-362, 2001.

HAMANN M, LIMPUS CJ, OWENS DW. Reproductive cycles of males and females. *In*: Lutz PL, Musick JA, Wyneken, J. (Ed.). **The Biology of sea turtle II**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2003. p.135-161.

HEDRICK, P.W. **Genetics of populations**. Boston: Science Books International, 1983, 629 p.

HIRSCHBERG, J.; McINTOSH, L. Molecular basis of herbicide resistance in *Amaranthus hybridus*. **Science**, Washington, v.222, n.4630, p.1346-1349, Dec. 1983.

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2009. <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria>

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2011 [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/estProdAgr\\_201105.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/estProdAgr_201105.pdf)

JOHNSON, IS. Human insulin from recombinant DNA technology. **Science**. p.632-637, 1983.

JOHN, B.; LEWIS, K. R. **Hierarquia cromossômica: Introdução à biologia dos cromossomos**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1985. 170 p.

JOHN, B.; LEWIS, K.R. **The meiotic mechanism**. Oxford: Oxford Biology Readers 65. University Press, 1973.

JONES, DF. Dominance of linked factors as a means of accounting for heterosis. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, v.3, p.310-312. 1917.

KALAPOTHAKIS, E. (Coord.). Teste de paternidade contribui para inibir o tráfico de aves silvestres no país. **Minas faz Ciência**, n. 30, 45-48, 2007.

KEARSSSEY, M.J.; POONI, H.S. **The genetical analysis of quantitative traits**. London: Chapman & Hall, 381 p, 1988.

KEMBLE, R. J.; BEDBROOK, J. R. Low molecular weight circular and linear DNA in mitochondria from normal and male-sterile *Zea mays* cytoplasm. **Nature**, London, v.284, n.5756, p.565-566, Apr. 1980.

KRUSH, G.S.; IRRI Breeding program and its worldwide impact on increasing rice production. In: GUSTAFSON, J.P. **Gene manipulation in plant improvement**. New York: Plenum Press, 1984, p.64-94.

LAIDLAW, HH; GOMES, FP; and KERR, WE. Estimations of the number of lethal alleles in a panmictic population of *Apis mellifera*. **Genetics**, 1956, v.41, p.179-188.

LEHNINGER, A. L. **Bioquímica**. 2ª ed. São Paulo: Edgard Blucher, v.4, 1983, p.601-770.

LELEJI O.I.; DICKSON, M.H.; CROWDER, L.V.; BOURKE, J.B. Inheritance of crude protein percentage and its correlation with seed yield in beans *Phaseolus vulgaris* L. **Crop Science**, Madison, v.12, n.2, p.168-171, Mar./Abr. 1972.

LEUDDERS, V.D. Genetic improvement in yield of soybeans. **Crop Science**, Madison, v.17, n.6, p.971-972, Nov./Dec. 1977.

LEVING, C. S.; PRING, D. R. Restriction endonuclease analysis of mitochondrial DNA from normal and texas cytoplasmic male-sterile maize. **Science**, Washington, v.193, n.4248, p.158-160, Jul. 1976.

LEWIN, B. **Genes VII**. New York: Oxford University Press, 2000, 990 p.

LEWIN, B. **Genes IX**. Jones and Bartlett Publishers. Boston: Singapore. 892p. 2008

LI, C.C. **First Course in Population Genetics**, Pacific Grove: The Boxwood Presses, 1976, 631 p.

LUSH, J.L. **Melhoramento genético dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: USAID, 1964, 570 p.

LYNCH, M.; WALSH, B. **Genetics and analysis of quantitative traits**. Sanderland: Sinaner Associates, 1997, 980 p.

MACHADO, C. DE F., J.B. DOS SANTOS, G.H. DE S. NUNES, J.M. DUARTE. Efficiency of genetic distance based on RAPD markers for choosing parents of common bean (*Phaseolus vulgaris* L. ). **Journal Genetics & Breeding**, v. 54, p. 251-258, 2000.

MACKAY, I.J., P.D.S. CALIGARI. Efficiencies of  $F_2$  and backcross generations for bulked segregant analysis using dominant markers. **Crop Science**, v. 40, p. 626-630, 2000.

MACKENSEN, O. Further studies on a lethal series in the honey bee. **J. Hered.** 46: 72-74. 1955

MARTINEZ, MM; FERREIRA, A DE A; MACAHDO, MA. Biotecnologia na pecuária: tecnologias reprodutivas. Informe Agropecuário – **Biotecnologia**. v.21. n.204. p.79-88. 2000.

MARTINEZ, MM; FERREIRA, AdeA; MACAHDO, M.A. Biotecnologia na pecuária: tecnologias reprodutivas. **Informe Agropecuário – Biotecnologia**. v.21. n.204. p.79-88. 2000.

MATHER, K.; JINKS, J.L. **Biometrical genetics**. New York: Chapman and Hall, 1977. 381 p.

MATHER, K.; JINKS, J.L. **Introdução à genética biométrica**. Rio de Janeiro: Gráfica e Editora FCA, 1983. 242 p.

MAYR, E. **Populações, espécies e evolução**. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1977. 485 p.

MAZIA, D. The cell cycle. **Scientific American**, New York, v.230, n.1, p.55-64, 1974.

MERRELL, DJ. **An introduction to genetics**. The University of Minnesota. 1975. 822p.

METTLER, L.E. & GREGG, T.G. **Genética de populações e evolução**. São Paulo: Polígono, 1973. 262 p.

MILLER, W.J. Dominance, codominance and epistasis. **Brazilian Journal of Genetics**, Ribeirão Preto, v.20, n.4, p.663-665, Dec. 1997.

MOONEY, P.R. **O escândalo das sementes**. São Paulo: Nobel, 1987. 146 p.

MROSOVSKYN, PROVANCHAJ. Sex ratio of hatchling loggerhead sea turtles: data and estimates from a 5-year study. **Can J Zool**, v.70, p.530-538, 1992.

MROSOVSKYN. Temperature dependence of sexual differentiation in sea turtles: implications for conservation practices. **Biol Conserv**, v.18, p.271-280, 1980.

MUNIZ, J.A. Avaliação da estabilidade de cultivares de milho em diferentes níveis de adubação locais e da região de Lavras – MG., 1995. 60 p. **Dissertação – Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas** – Universidade Federal de Lavras, Lavras: UFLA, 1995.

MUSGRAVE, M. E.; ANTONOVICS, J.; SIEDOW, J. N. Is male – sterility in plants related to lack of cyanide-resistant in tissues? **Plant Science**, Boston, v.44, n.1, p.7-11, 1986.

NASRALLAH, J.B. et al. Amino-acid sequence of glycoproteins encoded by three alleles of the S locus of *Brassica oleracea*. **Nature**, London, v.326, n.617-619, Apr. 1987.

NICHOLAS, FW. **Introdução à genética veterinária**. Trad. Rivo Fischer – Porto Alegre: Editora Artes Médicas Sul Ltda., 1999 p.326.

NIENHIS, J. et al. Restriction fragment length polymorphism analysis of loci associated with insect resistance in tomato. **Crop Science**, Madison, v.27, n.4, p.797-803, Jul./Aug. 1987.

OKAMOTO, OK.; MOREIRA FILHO, CA. Células-Tronco: genômica funcional e aplicações terapêuticas. In: MIR, L. (org.). **Genômica**. São Paulo: Atheneu, 2004. p. 311-327.

PADGETTE, S.R., KOLACZ, K.H., DELANNAY, X., RE, D.B., LAVALLEE, B.J., TINIUS, C.; RHODES, W. K.; OTERO, Y. I.; BARRY, G. F.; EICHHOLTZ, D. A.; PESCHKE, V. M.; NIDA, D. L.; TAYLOR, N. B.; KISHORE, G. M. Development, identification, and characterization of a glyphosate-tolerant soybean line. **Crop Science**, v.35, p.1451-1461, 1995.

PETERSEN, G; SEBERG O; YDE, M; BERTHELSEN K. Phylogenetic relationships of Triticum and Aegilops and evidence for the origin of the A, B, and D genomes of common wheat (*Triticum aestivum*). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v39 p.70-82. 2006.

PETIT, C; PRÉVOST, G. **Genética e evolução**. São Paulo: Edgard Blucher, 1973. 328 p.

PHILIPS, RL; VASIL, IK. **DNA-based markers in plants**. Kluwer Academic Publishers, London. 1994. 512p.

QUIRINO, M.S. Polimorfismos de sequência nucleotídica em fragmentos genômicos de cana-de-açúcar homólogos a genes de resistência. Piracicaba, ESALQ/USP, **Dissertação de Mestrado**, 2003.

RACHIE, K.O.; LYMAN, J. M. (eds.). **Genetic engineering for crop improvement**. Rockefeller: The Rockefeller Foundation, 254p., 1981.

RAMALHO, M.A.P.; SANTO, J.B. dos; ZIMMERMANN, M.J.deO. **Genética quantitativa em plantas autógamas**: Aplicações ao melhoramento do feijoeiro. Goiânia: Editora da Universidade Federal de Lavras. 271p. 1993.

RATH, D; JOHNSON, LA. Application and commercialization of flow cytometrically sex-sorted semem. **Reprod. Dom. Anim.** 43(Suppl. 2). 338-346. 2008

REIS, W.P.; RAMALHO, M.A.P.; PINTO, C.A.B.P. Herança do tamanho da semente do feijão. **Ciência e Prática**, Lavras, v.5, n. 1, p.66-71, Jan/Jun. 1981.

REITER, R.S.; J.G.K. Williams; K.A. Feldmann; J.A. Rafalski. Global and local genome mapping in *Arabidopsis thaliana* by using recombinant inbred lines and random amplified polymorphic DNAs. **Proc. Natl. Acad. Sci USA.**, v. 89, p. 1477-1481, 1992.

RIDLEY, M. **Evolution**. Blackwell Publishing. 3ª edição. 2004, 751 p.

- RITLAND, K. Population genetics and genomics. <http://www.genetics.forestry.ubc.ca/ritland> (em 01/07/2011).
- RODRIGUES, JL; RODRIGUES, B de A. evolução da biotecnologia da reprodução no Brasil e seu papel no melhoramento genético. **Revista Ceres**. v.56, n.4, p.428-436. 2009.
- RODRIGUES, M.T.; ESPESCHIT, C.J.B. O caráter mocho e a ocorrência de intersexos em caprinos. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.13, n.146, p.12-16, Fev. 1987.
- SCHENBERG, A. C. G.; ASTOLFI FILHO, S. Um gene de camundongo funcionando na levedura. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v.6, n.34, p.6-7, 1987.
- SCHIFFERLI, C.A., BONELLI, AM., WEVAR, C., SCILINGO, A.M., ARRUGA, M.V. Presumptive 1/29 Robertsonian translocation observed in the Argentinean Creole cattle breed. **Animal Research**, 52: 119-123, 2003
- SCHMUTZ, S. **Chromosome Considerations in Cattle.....Fertility**: Chromosome anomalies affecting fertility and abortion in cattle. February 2, 2003. <http://homepage.usask.ca/~schmutz/chromosome.html> Acesso em: 24 de fev. de 2007.
- SCHULZ-SCHAEFFER, J. **Cytogenetics: plants, animals, humans**. New York: Springer-Verlag, 1980. 446 p.
- SCHUSTER, I.; V.T. QUEIROZ; A.I. TEIXEIRA; E.G. de BARROS; M.A. MOREIRA. Determinação da pureza varietal de sementes de soja com o auxílio de marcadores moleculares microssatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p. 247-253, 2004.
- SHEPARD, J. F.; BIDNEY, D.; BARSBY, T.; KEMBLE, R. Genetic transfer in plants through interspecific protoplast fusion. **Science**, Washington, v.219, n4585, p.683-688, 1983.
- SHIFRISS, O. Sex control in cucumbers. **The Journal of Heredity**, Washington, v.52, n.1, p.5-12, Jan./Feb. 1961.
- SHIFRISS, O. The drooping syndrome of Ricinus. **The Journal of Heredity**, Washington, v.64, n.5, p.351-355, Sept./Oct. 1973.
- SILVIA, M. A. Melhoramento Genético de Aves no Brasil: Situação atual, perspectivas e viabilidade econômica. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.9, n.107, p.37-44, Nov. 1983.
- SIMMONDS, N.W. Polyploidy in plant breeding. *Span*, London, v.23, p. 73-75. 1980.
- SINNOT, E. W.; DUNN, L. C.; DOBZHANSKY, T. **Princípios de Genética**. 5. Ed. Barcelona: Omega S. A., 1975. 581 p.
- SOLEIMANI, V.D.; B.R. BAUM; D.A. JOHNSON. Efficient validation of single nucleotide polymorphisms in plants by allele-specific PCR, with an example from barley. **Plant Molecular Biology Reporter** 21: 281-288, 2003.

STANSFIELD, W. D. **Genetics**. 2ª Ed. New York: McGraw-Hill Book Company, 1983. 392 p.

STEBBINS, G.L. **Processos de evolução orgânica**. Rio de Janeiro: Polígono, 1970. 225 p.

STRICKBERGER, M. W. *Evolution – 3ª edição*. Jones and Bartlett. Publishers. Massachusetts, 2000 721 p.

STRICKBERGER, M. W. **Genetics**. 2ª Ed. New York: Macmillan Publishing Company, 1976, 914 p.

STRYER, L. **Biochemistry**. 4ª ed. New York: W.H. Freeman, 1995, 1064 p.

STUBER, C.W. 1994. **Breeding multigenic traits**. In: Phillips, R.L. e I.K. Vasil (Eds) *DNA-Based Markers in Plants*. Nova York, Kluwer Academic Publishers, 1994, p. 97-115

SWANSON, C. P. **A célula**. Rio de Janeiro: Edgard Blucher, 1972, 149 p.

SWANSON, C. P.; MERZ, T.; JOUNG, W. J. **Citogenética**. São Paulo: Polígono, 1969. 255 p.

SYBENGA, J. **General Cytogenetics**. New York : Nort-holland Publ. Co., 1972. 359 p.

TEPKER, G. E SMITH, C. Efficiency of MOET nucleus breeding schemes for traits with low heritability in dairy cattle. *Anim. Prod.* , 49: 163-169, 1989.

TROJANOWSKA, M.R.; H. BOLIBOK. Characteristics and a comparison of three classes of microsatellite-based markers and their application in plants. **Cellular & Molecular Biology Letters**, v. 9, p. 221-238, 2004.

TROYER, AF; WELLIN, EJ. Heterosis decreasing in hybrids: yield test inbreds. **Crop Science**, v.49, p.1969-2009.

TSUZUKU, E; SHIMOKAWA, E. Inheritance of aroma in rice. **Euphytica** 46:2. 157-159.

VELANDER, W. H.; LUBON H., DROLEAN, W. N. Transgenic livestock as drug factories. **Scientific American**, New York, v.276, n.1, p.70-74, 1997.

VENCOVSKY, R. & BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992, 486 p.

VENCOVSKY, R. Herança Quantitativa. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G. P. **Melhoramento e produção de milho**. Campinas: Fundação Cargil, 1987, p.137-209.

VENCOVSKY, R. **Princípios de genética quantitativa**, Piracicaba, 1977. 97 p.

VERNETT, F. J. **Soja: Genética e Melhoramento**. Campinas: Fundação Cargill, v.2, 1983, p.465-990

VIEGAS, J. A.; BARROS, P. M. de (rg.). **Biotechnology e desenvolvimento nacional**. São Paulo: Departamento de Ciência e Tecnologia de São Paulo, 1986. 318 p.

WATSON, J. D. **Molecular biology of the gene**. 3ª Ed. Ménio Park: W.ª Benjamin, 1977. 739 p.

WELSH, J. R. **Fundamentals of plant genetics and breeding**. New York: Jonh Wiley & Sons, 1981. 290p.

WHITE, M. J. D. **Os cromossomos**. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1977. 196 p.

WILLIAMS, W. **Princípios de genetica y mejora de plantas**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1965. 527 p.

WILMUT, I; SCHINIEKE, AE; MCWHIR, I; KIND, AJ; CAMPBELL, KHS. Viable off spring derive from fetal and adult mammalian cells. **Nature**, London, v.385, p. 810-813. 1997.

Wilmut, I; Schinieke, AE; MCwhir, I; kind, aJ; campbell, khs. Viable off spring derive from fetal and adult mammalian cells. **Nature**, London, v.385, n.1, p. 810-813. 1997.

ZHANG, A; QIU, F; LIU, YONGZHONG; MA, K; LI, Z; XU, S. Chromosome elimination and in vivo haploid production induced by Stock 6-derived inducer line in maize (*Zea mays* L.) **Plant Cell Rep**, v27, p.1851-1860, 2008.

