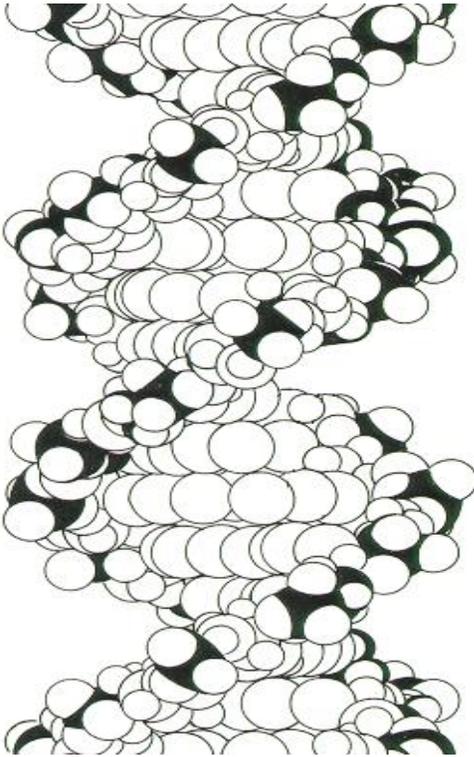


**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE
MESQUITA FILHO”**

FACULDADE DE ENGENHARIA DE ILHA SOLTEIRA
Departamento de Biologia e Zootecnia

APONTAMENTOS DE GENÉTICA



*Apontamentos de aula da
disciplina Genética, oferecida
aos alunos do
Curso de Agronomia e
Zootecnia da FEIS/UNESP*

Prof. JOÃO ANTONIO DA COSTA ANDRADE

F E P I S A

FUNDAÇÃO DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO DE ILHA SOLTEIRA

*ILHA SOLTEIRA - SP
FEVEREIRO/2009*

I. INTRODUÇÃO

Genética (significa gerar) é o ramo da biologia que estuda a hereditariedade e suas variações. Envolve os mecanismos de transmissão dos caracteres e as propriedades das "partículas" que asseguram essa transmissão.

Hereditariedade é o nome dado ao processo (fenômeno) de transmissão de caracteres dos ascendentes aos descendentes (contínua biológica).

A genética procura resposta e aplicação para três questões básicas, cujas soluções vêm sendo descobertas através dos tempos:

1 - Qual a natureza do material genético transmitido?

- W. ROUX (1883) postulou que os cromossomos eram portadores dos fatores hereditários, teoria confirmada por MORGAN & BRIDGES (1910);

- O.T. AVERY, C. McLEOD & McCARTY (1944) mostraram o papel dos ácidos nucléicos que foram isolados por F. MIESCHER (1869);

- J.D. WATSON e F.H.C. CRICK (1953) descobriram a estrutura em dupla hélice do DNA.

2 - Como o material genético é transmitido?

- G. MENDEL (1866), redescoberto em 1900, simultaneamente por H. de VRIES, C. CORRENS e E. VON TSCHERMAK-SEY SENEGG. Foi o início da genética como ciência.

- BATESON (1902) discutiu os Princípios da Hereditariedade de Mendel. Nessa época já foram usados os termos alelo, gameta, heterozigose e homozigose.

3 - Qual o processo que garante a expressão dos caracteres?

- A.E. GARROD (1902) verificou que havia relação dos genes com as enzimas nos humanos (genes funcionando através das enzimas);

- Estudos de BEADLE & TATUM após 1941 começaram a esclarecer o processo de síntese de proteínas e outros processos bioquímicos.

Algumas áreas da genética:

- Citogenética
- Genética molecular
- Genética de microrganismos
- Engenharia genética
- Genética de populações
- Genética quantitativa

Importância da Genética:

- Indústria
- Área criminal
- Saúde (penicilina, insulina, terapia gênica, etc.
- Agropecuária melhoramento animal e vegetal)

II. BASES QUÍMICAS DA HEREDITARIEDADE

Os três requisitos básicos para uma molécula servir como material genético são: 1) Capacidade de armazenar informação genética sob uma forma estável e de transferir esta informação a todas as partes da célula; 2) Capacidade de duplicar com precisão a informação e transferi-la às outras células durante a divisão celular; e 3) Capacidade de sofrer variações, sob a forma de mutações. As principais candidatas lançadas inicialmente pelos pesquisadores foram o *DNA*, o *RNA* e as *proteínas*.

Ao longo do tempo diversos experimentos foram realizados buscando comprovar quem é o material genético. Os mais decisivos foram os seguintes: 1) GRIFFITH (1928), estudando transformação genética em *Pneumococcus pneumoniae*; 2) AVERY, MacLEOD e McCARTY (1944), também estudando transformação genética em *Pneumococcus pneumoniae*; 3) HERSHEY e CHASE (1952), estudando ação de Bacteriófagos marcados com elementos radioativos; 4) STADLER e UBER (1942), BEADLE (1957), estudando o efeito de raios ultravioleta em pólen de milho; e 5) FRAENKEL e CONRAT (1957), estudando vírus TMV do

fumo. Estes experimentos estão muito bem descritos nos livros textos de genética e não serão vistos com maiores detalhes aqui.

Estrutura dos ácidos nucléicos

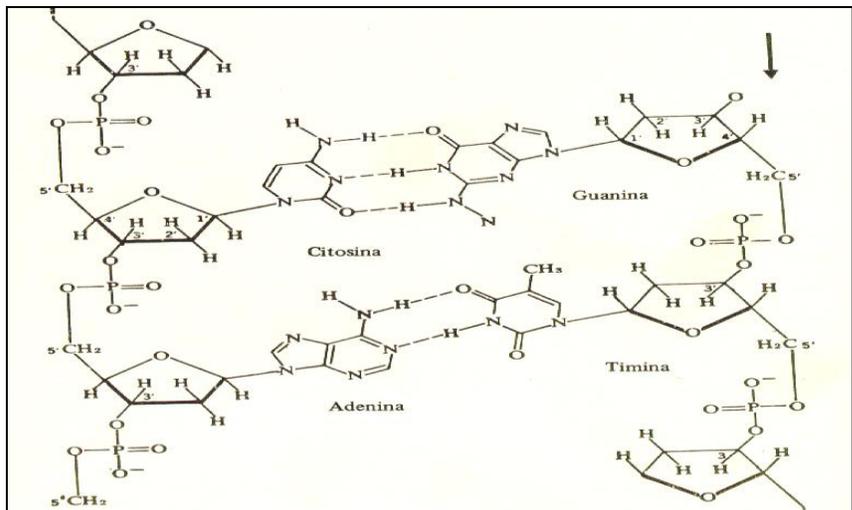
O DNA (ácido desoxirribonucléico) é formado por unidades de ácido fosfórico, desoxirribose (açúcar de 5 C) e pelas bases nitrogenadas adenina (A), guanina (G), tímima (T) e citosina (C). A e G pertencem ao grupo das purinas e T e C ao grupo das pirimidinas. A unidade formada por uma molécula de açúcar, uma de ácido fosfórico e uma base nitrogenada recebe o nome de nucleotídeo (desoxirribonucleotídeo por ser do DNA). Os nucleotídeos estão ligados através do ácido fosfórico e do carbono 5 da desoxirribose, formando cadeias. Duas cadeias se complementam através do pareamento entre A = T e C ≡ G. Esse pareamento entre purinas e pirimidinas ocorre através de pontes de hidrogênio. Para haver um correto pareamento as cadeias são antiparalelas. A informação genética está na sequência de bases nitrogenadas do DNA.

O RNA (ácido ribonucléico) possui estrutura parecida com o DNA, exceto no açúcar que é a ribose, na ocorrência da base nitrogenada uracila (U) no lugar da tímima (T) e na estrutura de cadeia única ao invés de cadeias duplas pareadas. Os tipos de RNA que ocorrem são o mensageiro (mRNA), ribossômico (rRNA), transportador (tRNA) e pequenos RNAs nucleares.

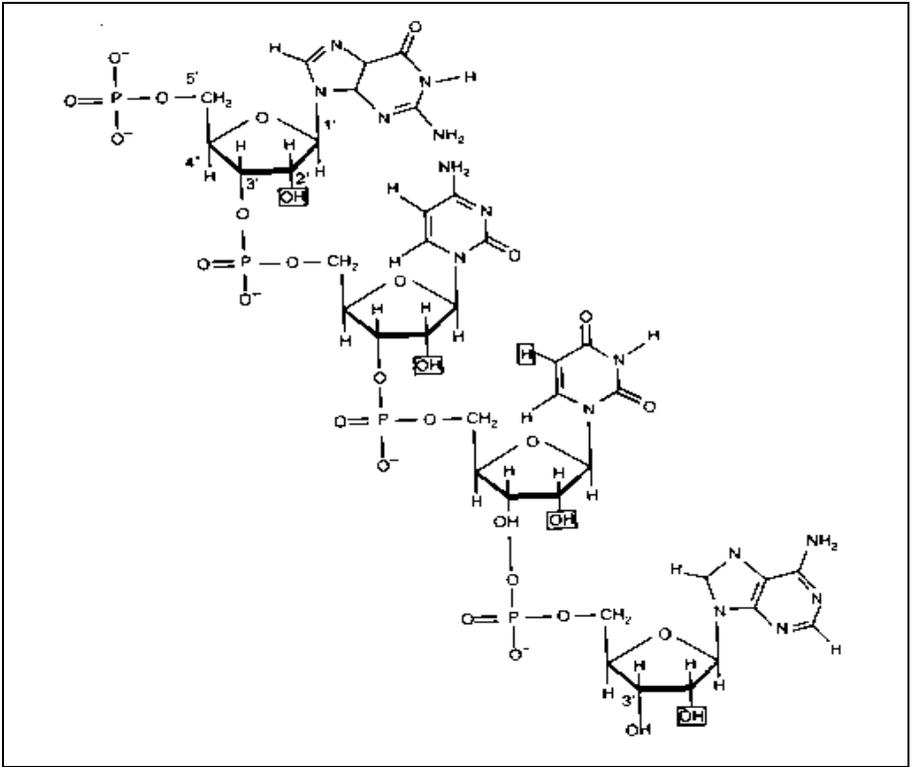
Arranjo do material genético

Nos procaríotos ocorre um DNA circular, livre de complexos enzimáticos, no nucleoplasma da célula, enquanto nos eucariontes o DNA (em quantidade bem maior) está organizado nos cromossomos, complexado com proteínas histônicas.

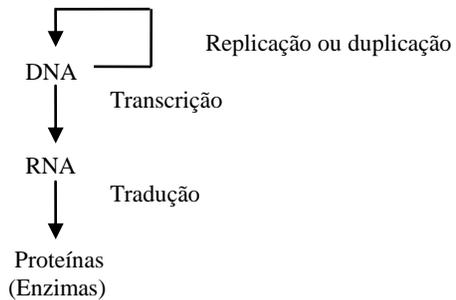
Estrutura molecular plana do DNA



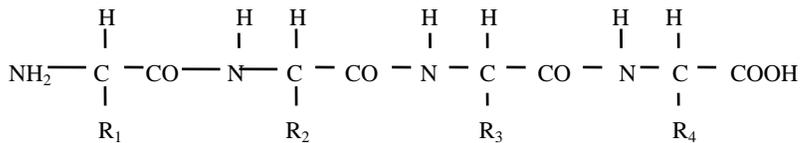
Estrutura molecular plana do RNA



Funções do material genético



Proteína: uma sequência de aminoácidos como estrutura primária.



Nos eucariotos, logo após a transcrição de um gene codificante de uma proteína, o RNA é chado de primário ou heterogêneo (hnRNA), pois ainda contém os introns. Portanto sofre um processamento antes de se tornar o mRNA que vai para o citoplasma.

- Replicação ou duplicação do DNA

A duplicação é dita semi-conservativa pelo fato de as cadeias serem preservadas sem quebra, havendo apenas uma abertura, pelo rompimento das pontes de hidrogênio, com pareamento de novas bases nitrogenadas. Portanto as moléculas novas de DNA sempre conservam uma cadeia da molécula mãe.

O sinal para a duplicação se iniciar é dado geneticamente através de proteínas ativadoras, no momento necessário, ou seja, na fase de síntese, anterior à divisão celular. O termo *replicon* é usado para designar qualquer pedaço de DNA capaz de se autoduplicar. Como essa autoduplicação necessita de uma origem para ser realizada, o termo *repli-con* confunde-se com a mesma. Em procariotos a origem (Ori) é única para o DNA circular, enquanto nos eucariotes temos inúmeras origens, ou inúmeros replicons. A própria velocidade de replicação e o tamanho do genoma eucariote exige esse maior número de replicons para conseguir duplicar todo seu DNA em um determinado espaço de tempo. Como os procariotos possuem apenas uma fita dupla de DNA, um replicon é suficiente.

Em procariotos foi verificado que a origem é mais ou menos constante na sua constituição de bases, principalmente na região um pouco anterior a ela (± 555 pares de bases). Após a abertura da fita dupla de DNA, realizada pelas enzimas denominadas desenrolases e helicases (ruptura das pontes de hidrogênio), esta região é utilizada pelas enzimas que nortearão a ligação da enzima RNA-polimerase na formação do *primer* de RNA. Esse primer é a polimerização de ribonucleotídeos complementares à fita de DNA, necessário pelo fato das enzimas DNA-polimerases não conseguirem polimerizar desoxirribonucleotídeos sem que haja um final 3'-OH disponível.

Após a formação do primer começa a adição de desoxirribonucleotídeos pela DNA-polimerase III, sempre no final 3' da cadeia. Com isso fica claro que o crescimento da cadeia nova se dá no sentido 5'-3'. No caso da fita complementar do DNA original a polimerização é feita em pequenos fragmentos, denominados *fragmentos de Okazaki*. A polimerização neste caso não é contínua pelo fato de cadeia ser antiparalela à primeira e a direção de abertura do DNA é contrária ao sentido 5'-3' da nova cadeia que será polimerizada.

Experimentos com *Escherichia coli*, envolvendo pulsos de nucleotídeos radioativos, mostraram que a replicação caminha em duas direções a partir da origem. Em microscopia eletrônica é possível verificar o DNA circular em forma de θ , ou seja, em meio a uma duplicação bidirecional. Em cada direção temos então o que se chama de força de replicação.

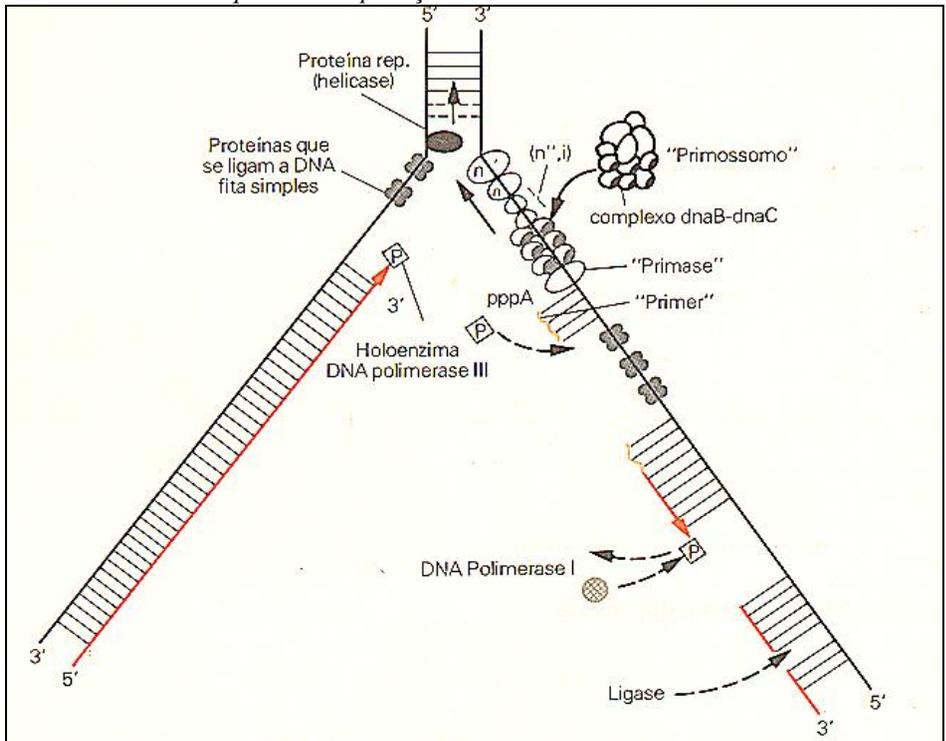
Em uma força de duplicação verificamos primeiramente a ação da helicase rompendo as pontes de hidrogênio que une as cadeias do DNA original. Em seguida, na fita original 3'-5', ocorre a ligação de proteínas que vão direcionar a ação da DNA-polimerase III. Deste lado a polimerização é contínua pois a cadeia nova terá sentido 5'-3', idêntico ao sentido de polimerização feito pela DNA-polimerase III. A cadeia original complementar está sendo liberada pela helicase no sentido 5'-3', contrário ao sentido de polimerização. Nesse caso ela é corrida no sentido 5'-3' por um complexo enzimático (20 unidades protéicas) denominado primossomo. Este complexo mais RNA-polimerase vão polimerizando os primers de RNA no início de cada fragmento de Okazaki. Em seguida a DNA-polimerase III, sempre direcionada pelas proteínas ligadas à cadeia do DNA original, completa o fragmento de Okazaki com desoxirribonucleotídeos, sempre no sentido 5'-3' da cadeia nova.

Todos os primers de RNA são retirados, após a polimerização completa, pela DNA polimerase I que tem a função exonucleásica (substituição de nucleotídeos) tanto no sentido 3'-5' como 5'-3'. Esta enzima, como a DNA-polimerase II, que tem função exonucleásica apenas no sentido 5'-3', tem a capacidade de retirar ribonucleotídeos e colocar desoxirribonucleotídeos,

além de substituir desoxirribonucleotídeos colocados incorretamente. A ligação final entre os fragmentos de Okazaki é feita pela DNA-ligase.

No caso de procariotos as duas forcas de duplicação crescem até se encontrarem e então dois novos DNAs estarão formados. Nos eucariontes ocorrem diversos encontros de forcas de replicação para serem formados dois novos DNAs.

Esquema da replicação semi-conservativa do DNA



- Transcrição

A transcrição nada mais é do que a formação de RNA tendo uma cadeia de DNA como molde. Portanto, para que isso ocorra, a fita dupla do DNA precisa ser aberta. Através do pareamento das bases nitrogenadas é possível passar a informação genética codificada na sequência de bases do DNA para uma cadeia de RNA que leva a informação genética para o citoplasma. A transcrição é feita de genes individuais ou grupos seletivos de genes (operons), pela RNA polimerase (principal enzima envolvida no processo);

A regulação da transcrição de um determinado gene ou operon depende do seu promotor. Este promotor nada mais é do que um gene regulador colocado antes do ponto inicial de transcrição de um gene estrutural ou de um operon. A região promotora é reconhecida pela RNA- polimerase e, desde que a transcrição não esteja bloqueada por algum repressor, esta corre pela fita em busca do ponto inicial da transcrição. A RNA-polimerase é uma enzima complexa composta de 5 subunidades (α_1 , α_2 , β_1 , β_2 e ω). Além disso outros fatores auxiliam na sua ação (σ e ρ).

O ponto inicial da transcrição é reconhecido pelo fator σ que traz consigo a RNA-polimerase. Após o reconhecimento ele se dissocia para ser reutilizado em outra transcrição. Neste ponto a RNA-polimerase começa a polimerizar ribonucleotídeos complementares à cadeia

de DNA que está sendo transcrita. Antes de encontrar o final da transcrição, um outro fator, denominado NusA se liga à RNA-polimerase, justamente no sentido de auxiliar a mesma na terminação da transcrição. Porém o reconhecimento propriamente dito do final da transcrição é feito pelo fator ρ . A região de reconhecimento de ρ geralmente é caracterizada por sequências da mesma cadeia de DNA que podem se parear formando uma estrutura em grampo. Também as bases complementares aos códons de terminação da síntese protéica estão envolvidas no sinal que indica o final da transcrição. Com o final desta libera-se o RNA transcrito para realizar sua função e as enzimas para serem reutilizadas.

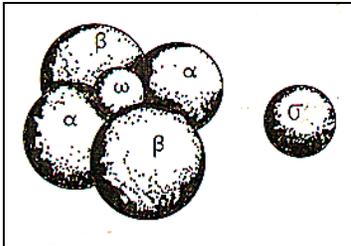
Com relação à cadeia de DNA, sabe-se que apenas uma é transcrita em um determinado momento, embora a outra possa ser transcrita em um outro momento diferente. Da mesma maneira, temos genes sobrepostos, o que indica a possibilidade do promotor de um gene ser parte integrante de um outro.

O produto da transcrição não é apenas mRNA, mas também tRNA e rRNA. Em bactérias há ± 56 tipos diferentes de tRNAs, cada um com inúmeros genes de onde são transcritos. Da mesma maneira, os rRNAs são representados pelas famílias 5S, 5,8S, 16S, 23S e 28S, de acordo com a velocidade de sedimentação. O número de genes para tRNAs e rRNAs em eucariotos é maior ainda.

Em procariotos os mRNAs não sofrem processamento, uma vez que os genes são livres de *introns* (regiões que não codificam nada). Porém os tRNAs terão que adquirir uma estrutura própria (trevo ou L), para interagir, cada tipo, com sua aminoacil tRNA sintetase e se ligar ao aminoácido específico. Os rRNA serão estruturados para comporem as subunidades ribossomais. Em eucariotos o sistema de processamento dos mRNAs é necessário para a retirada dos introns.

Com relação à RNA-polimerase, sabe-se que os procariotos possuem apenas um tipo, enquanto que os eucariotos possuem três tipos (RNA-polimerase I, II e III). A primeira está relacionada com a transcrição de RNAs de cadeia longa e as outras com RNAs de cadeia curta (tRNAs e rRNAs).

Estrutura da RNA polimerase



- Código genético

A descoberta de que as proteínas são arranjos lineares de aminoácidos como os nucleotídeos de um ácido nucléico, levou à hipótese de que a sequência dos aminoácidos na proteína é especificada pela sequência dos nucleotídeos de um gene no DNA. Como foram reconhecidos 20 aminoácidos, haveria necessidade de 20 palavras à partir de 4 letras.

Essas palavras (códigos) são conjuntos de 3 letras (bases nitrogenadas).

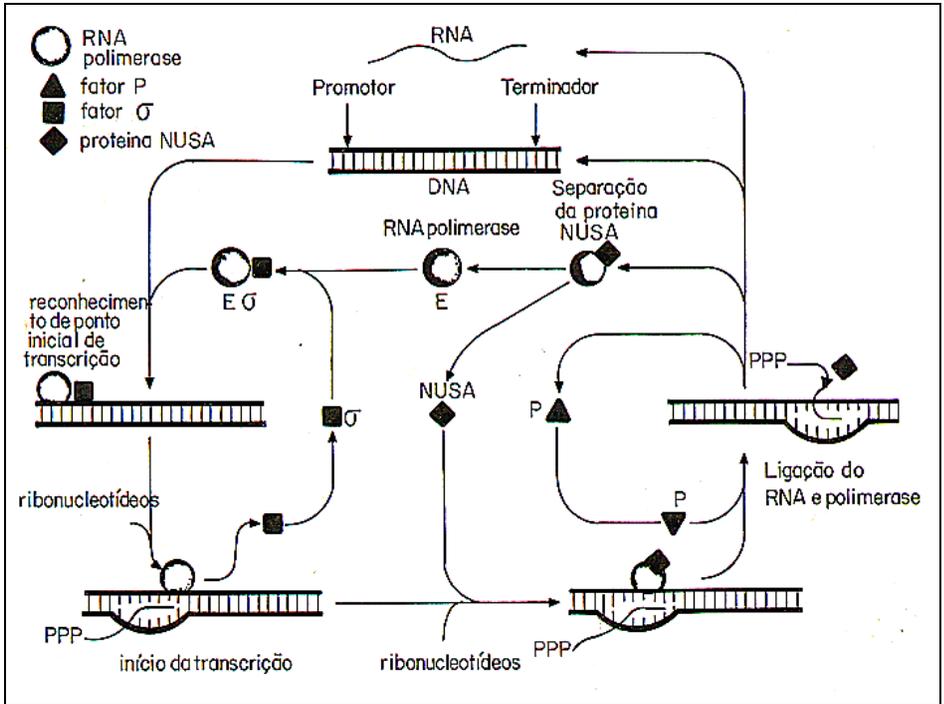
Código de 1 letra - 4 aa diferentes (insuficiente para codificar 20 aa);

Código de 2 letras - 16 aa diferentes (também insuficiente);

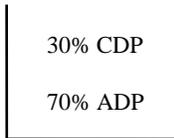
Código de 3 letras - 64 aa diferentes (suficiente).

Em 1960 foi isolada a enzima polinucleotídeo fosforilase que sintetiza mRNA sem DNA como molde, de modo que a sequência de nucleotídeos depende exclusivamente da composição de bases no meio. Essa enzima permitiu experimentos para se descobrir quais aminoácidos são codificados por cada “palavra” de três letras (bases nitrogenadas). O primeiro código decifrado foi o UUU que significa o aminoácido fenilalanina na proteína formada. Em seguida foram decifrados AAA (lisina) e CCC (prolina). Os demais foram decifrados através da síntese de mRNAs a partir de misturas de proporções conhecidas de diferentes bases, como no exemplo colocado adiante.

Esquema da transcrição



Proporção esperada de trincas no mRNA sintético formado:



$$\begin{aligned}
 AAA &= 0,7 \times 0,7 \times 0,7 = 0,343 \text{ (34,3\%)} \\
 AAC, ACA, CAA &= 0,7 \times 0,7 \times 0,3 = 0,147 \text{ (14,7\%)} \\
 ACC, CAC, CCA &= 0,7 \times 0,3 \times 0,3 = 0,063 \text{ (6,3\%)} \\
 CCC &= 0,3 \times 0,3 \times 0,3 = 0,027 \text{ (2,7\%)}
 \end{aligned}$$

Na proteína formada foi encontrado 14,7% de asparagina. Portanto os códigos AAC, ACA e CAA codificam esse aminoácido.

- Propriedades do código

- 1 - Unidade de 3 letras;
- 2 - Tem ponto inicial (AUG - formilmetionina nos procariontes e metionina nos eucariotos);
- 3 - Não é sobreposto;
- 4 - Não tem vírgulas (o códon é sempre as 3 letras seguintes);
- 5 - É degenerado (mais de um códon para cada aminoácido);
- 6 - Não é ambíguo (em condições naturais);
- 7 - É universal (com exceções)

AUA - isoleucina

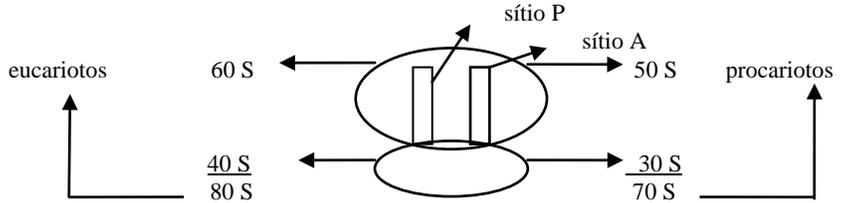
└──────────┬──────────> Metionina em mitocôndria de mamíferos.

- 8 - O código tem ponto final (UAA, UAG e UGA)

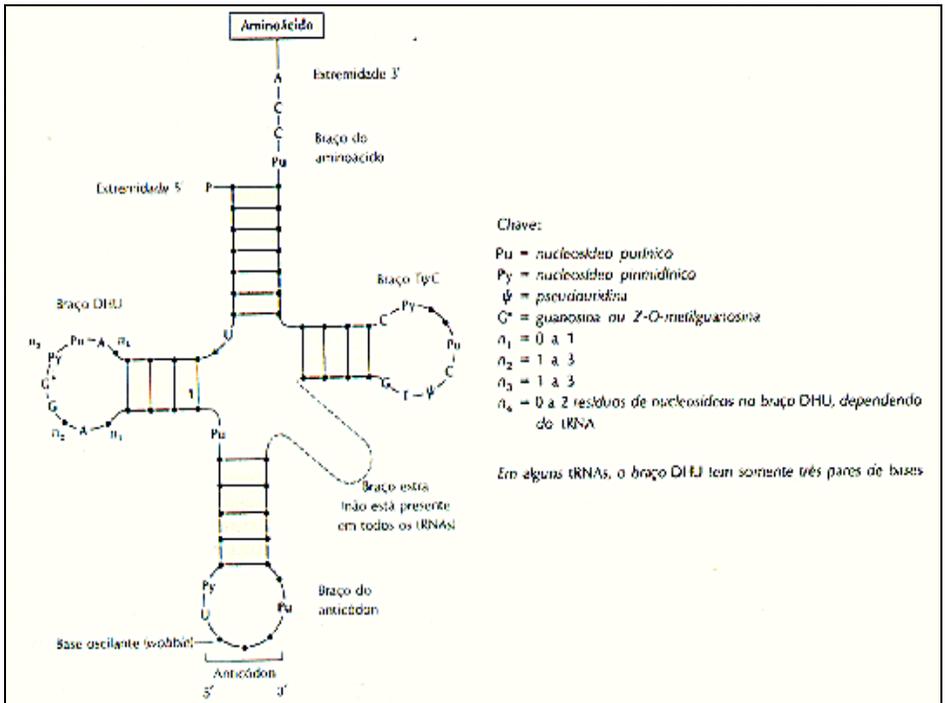
- Tradução (Síntese Protéica)

Os participantes principais da síntese de proteínas são: mRNAs, tRNAs, ribossomos e aminoácidos. Um grande número de enzimas também participa do processo que pode ser dividido em quatro passos: Ativação dos aminoácidos, Iniciação, Alongamento da cadeia e Terminação.

Estrutura de um ribossomo



Esquema de um tRNA



a) Ativação dos aminoácidos

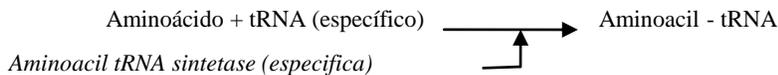
Este passo consiste na ligação do aminoácido ao seu tRNA específico. Isto torna-se necessário uma vez que os aminoácidos não reconhecem o mRNA diretamente e os tRNAs funcionam como adaptadores. Todos os tRNAs possuem uma extremidade comum (AAC) onde o aminoácido específico será ligado. A especificidade entre o aminoácido e o seu tRNA é dada mais propriamente pela enzima que realiza essa ligação (Aminoacil tRNA sintetase). Esta enzima possui três sítios ativos onde se colocam o ATP, o aminoácido específico e o tRNA específico.

Tabela de códons

		2ª posição					
		U	C	A	G		
1ª	U	UUU = Phe	UCU = Ser	UAU = Tyr	UGU = Cys	U	
		UUC = Phe	UCC = Ser	UAC = Tyr	UGC = Cys	C	
		UUA = Leu	UCA = Ser	UAA = P.F.	UGA = P.F.	A	
		UUG = Leu	UCG = Ser	UAG = P.F.	UGG = Trp	G	
	P	C	CUU = Leu	CCU = Pro	CAU = His	CGU = Arg	U
			CUC = Leu	CCC = Pro	CAC = His	CGC = Arg	C
			CUA = Leu	CCA = Pro	CAA = Gln	CGA = Arg	A
			CUG = Ile	CCG = Pro	CAG = Gln	CGG = Arg	G
	ç	A	AUU = Ile	ACU = Thr	AAU = Asn	AGU = Ser	U
			AUC = Ile	ACC = Thr	AAC = Asn	AGC = Ser	C
			AUA = Ile	ACA = Thr	AAA = Lys	AGA = Arg	A
			AUG = Met	ACG = Thr	AAG = Lys	AGG = Arg	G
o	G	GUU = Val	GCU = Ala	GAU = Asp	GGU = Gly	U	
		GUC = Val	GCC = Ala	GAC = Asp	GGC = Gly	C	
		GUA = Val	GCA = Ala	GAA = Glu	GGA = Gly	A	
		GUG = Val	GCG = Ala	GAG = Glu	GGG = Gly	G	

Abreviações: Phe = fenilalanina; Leu = leucina; Ile = isoleucina; Me = metionina; Val = valina; Ser = serina; Pro = prolina; Thr = treonina; Ala = alanina; Tyr = tirosina; His = histidina; Gln = glutamina; Asn = asparagina; lys = lisina; Asp = ácido aspártico; Glu = ácido glutâmico; Cys = cisteína; Trp = triptofano; Arg = arginina; Gly = glicina; P.F. = ponto final.

De acordo com a especificidade ressaltada pressupõe-se que existam pelo menos 20 enzimas aminoacil tRNA sintetase, uma para cada aminoácido.



b) Iniciação

O complexo de iniciação compreende o mRNA entre as subunidades ribossomais, com o primeiro aminoacil tRNA colocado no sítio peptidil. Para formação deste complexo as duas subunidades ribossômicas separam-se com o auxílio do fator de iniciação FI-3.

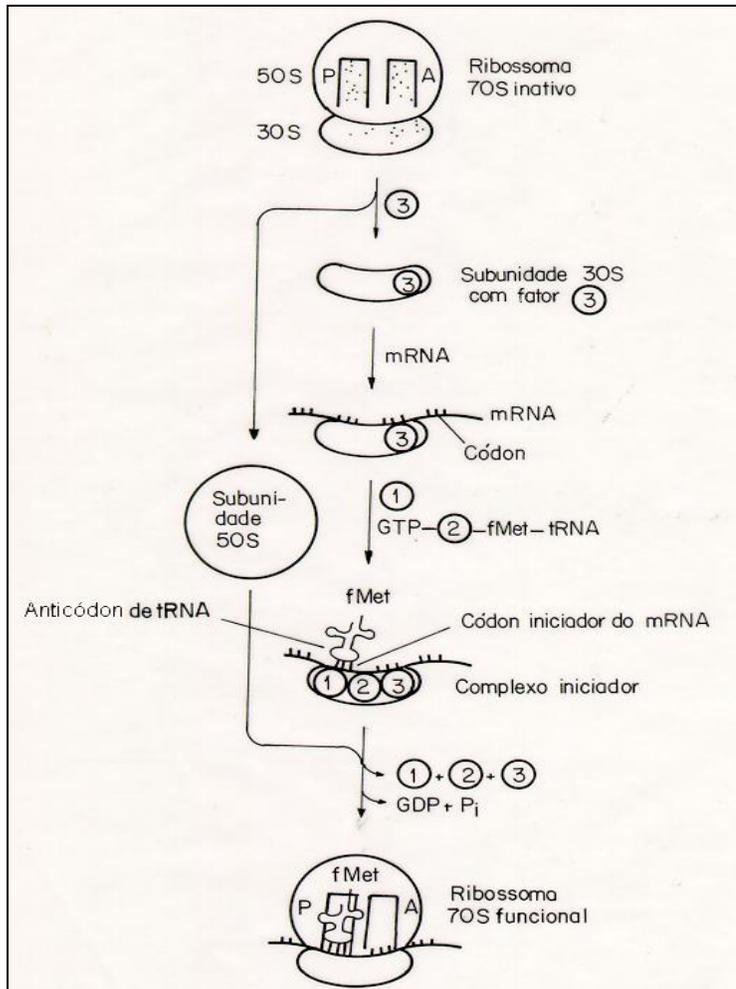
O mRNA coloca-se sobre a subunidade menor e o primeiro aminoácido (fMet ou Met) é colocado, de acordo com o códon iniciador (sempre AUG). Participam os fatores de iniciação FI-2 e FI-1. A subunidade maior encaixa-se sobre esse complexo, ficando o primeiro aminoácido no sítio do peptidil enquanto o sítio do aminoacil fica livre para receber o aminoácido seguinte.

c) Alongamento

O aminoácido especificado pelo códon colocado no sítio A é trazido (na forma de aminoacil tRNA) pelo fator de alongamento FA-T. Somente se encaixará nesse sítio o aminoacil tRNA cujo anticódon do tRNA se encaixar no códon especificado no mRNA. Ocorre então a ligação peptídica entre o aminoácido do sítio P com aquele que entrou no sítio A, com o auxílio

da enzima peptidil transferase. O tRNA do sítio P é eliminado e o tRNA do sítio A (carregando o peptídeo) junto com mRNA, é deslocado para o sítio P, com o auxílio do fator de alongamento FA-G, deixando novamente o sítio A vazio e com o próximo códon colocado. O processo se repete até a terminação da cadeia.

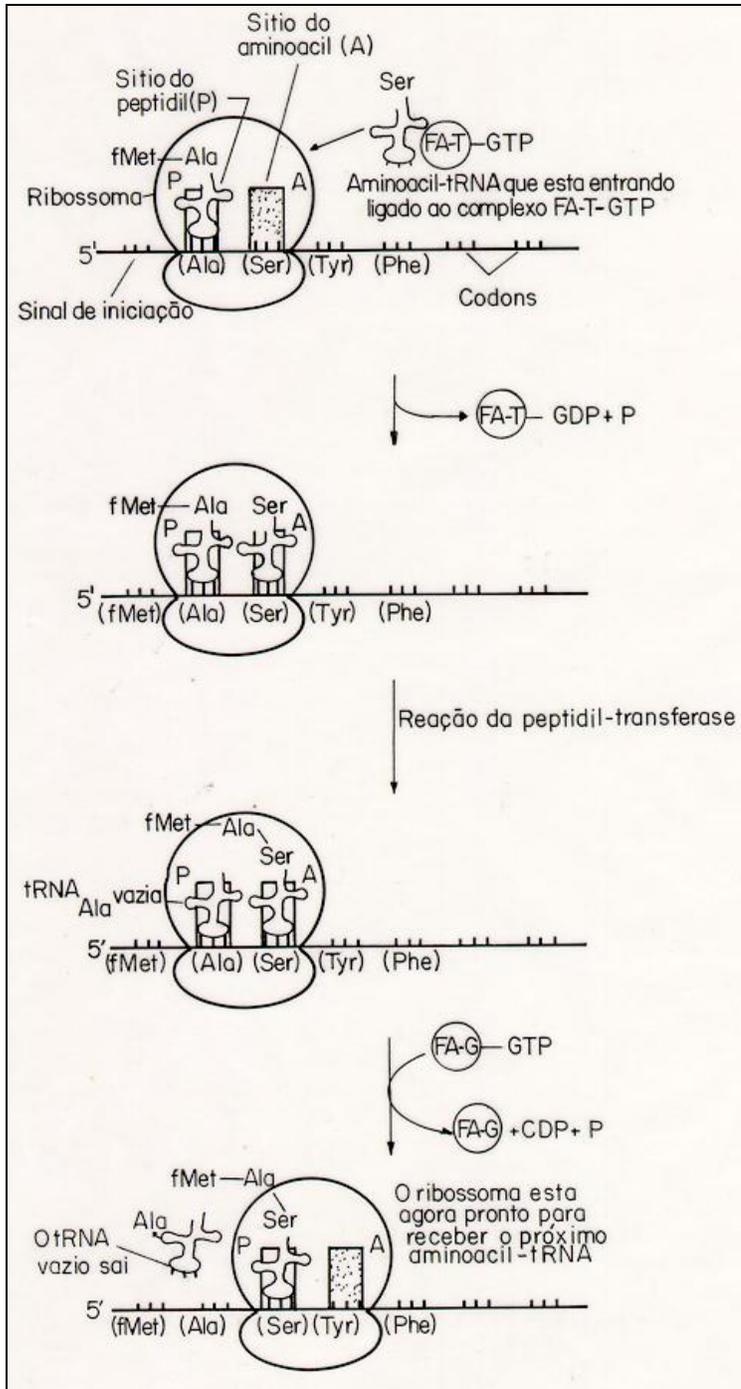
Esquema da iniciação da síntese



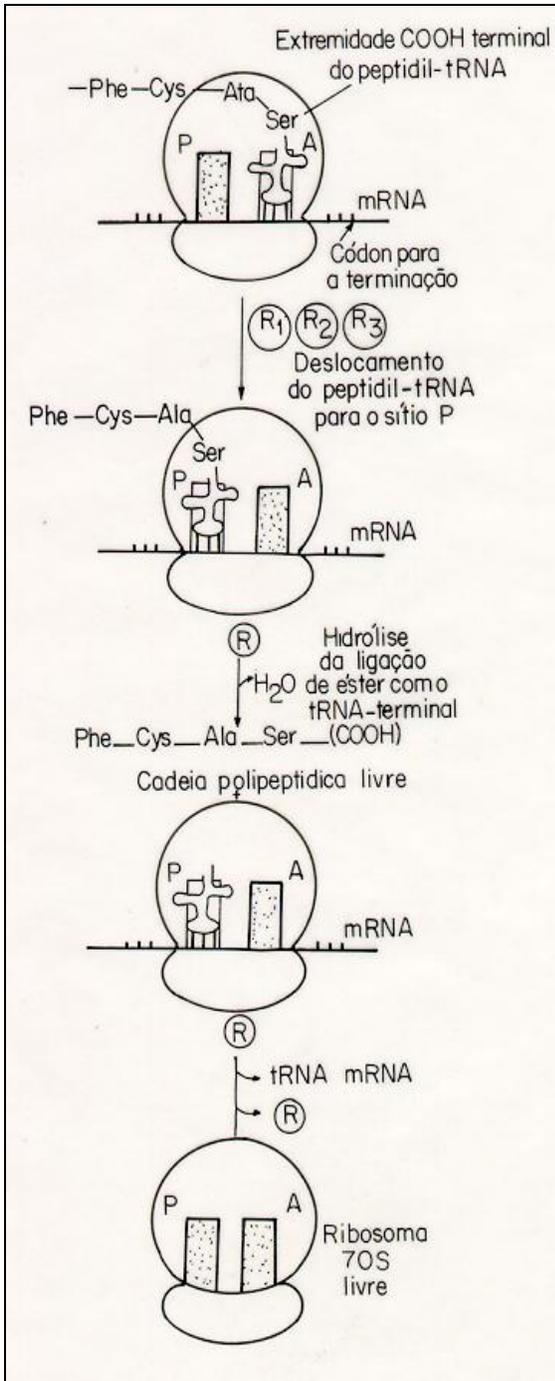
d) Terminação

O sinal para terminação é dado por um códon sem sentido (UAG, UAA) que entra no sítio A. Os fatores de terminação libertam a cadeia polipeptídica e retiram o último tRNA do sítio P. O ribossomo fica livre para iniciar outra síntese. Na outra extremidade, à medida que o mRNA também vai ficando livre, ele pode se associar a outro(s) ribossomo(s), formando uma estrutura alongada muito comum, que são os chamados polirribossomos. Esses polirribossomos aparecem normalmente na síntese de proteínas de cadeia muito longa, onde são sintetizadas várias moléculas da proteína ao mesmo tempo.

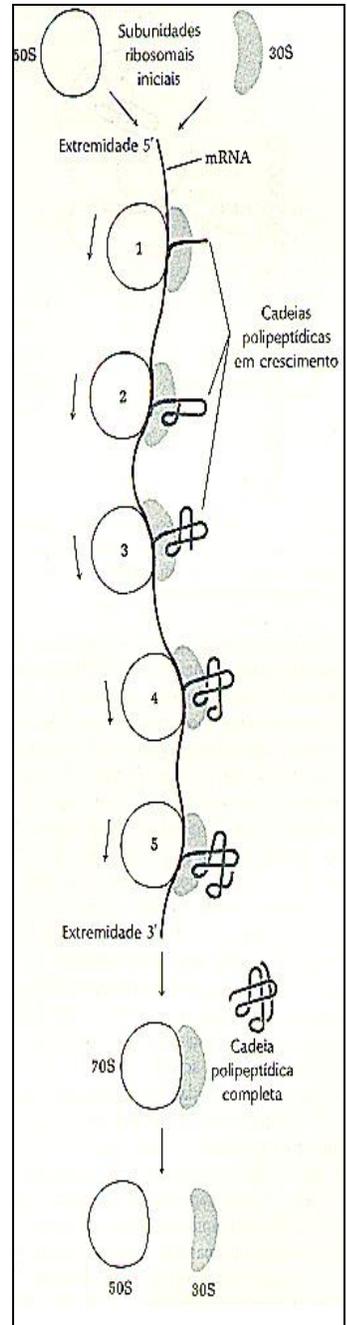
Esquema do alongamento da cadeia



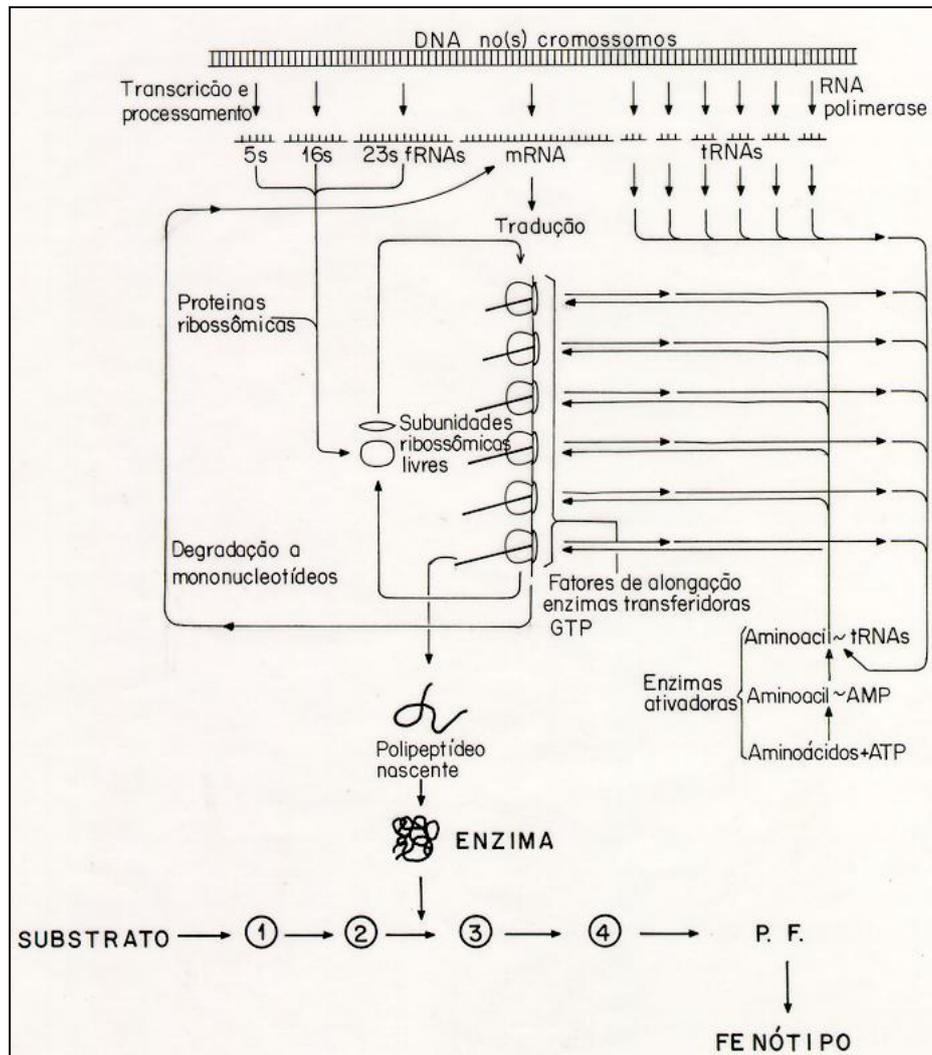
Esquema da terminação da cadeia



Polirribossomo (síntese de várias moléculas de proteína ao mesmo tempo)



Esquema geral da síntese de proteínas, relacionada com o fenótipo



Mutação

A mutação é definida como uma modificação súbita e herdável, não explicável pela recombinação da variabilidade. Serve como “matéria prima” aos processos de melhoramento genético e evolução, pois é o processo que realmente cria variabilidade. Temos os seguintes tipos:

- 1) *Mutação cromossômica* - envolve alteração herdável de pedaços de cromossomos, como vários genes (duplicação, inversão, deleção, translocação);
- 2) *Mutação gênica ou de ponto* - envolve a alteração direta no DNA, através da substituição, adição ou deleção de bases nitrogenadas;
 - 2.1) *Espontânea* - radiações naturais (0,8 R/ano), substâncias autotóxicas da própria célula e tautomerismo de bases. Tautômeros são análogos de bases nitrogenadas que podem substituí-las mas podem realizar pareamentos incorretos. A adenina na forma imino pode pairar com C ao invés de T, por exemplo. A frequência da mutação de ponto espontânea é 1 em 10^6 - 10^7 , já considerando as formas de reparo.
 - 2.2) *Induzida* - agentes físicos e químicos que provocam trocas, deleções e inserções de bases.

Regulação gênica

Os genes da célula não são todos ativos ao mesmo tempo, existindo um sistema de regulação que permite o funcionamento de cada gene apenas nos momentos necessários. Para um melhor entendimento dos sistemas de regulação devemos entender alguns conceitos.

-*Genes estruturais* - são aqueles que produzem um produto químico final como enzima, proteína estrutural, proteína de transporte, hormônio, imunoproteínas, RNA não traduzido (rRNA, tRNA), proteína repressora;

-*Genes reguladores* - são aqueles que não são transcritos em RNA, não tendo produtos químicos como produto

final, funcionando apenas como "interruptores" que ligam ou desligam um ou mais genes estruturais sob seu controle;

-*Genes promotores* - Ligação da RNA polimerase para transcrição;

-*Genes operadores* - Ligação da proteína repressora da transcrição;

-*Genes terminadores* - Ligação do fator "rhô";

-*Operon* - sequência nucleotídica formada pelas regiões promotoras, operadoras e os genes estruturais sob o controle destas;

-*Enzimas induzíveis* - São aquelas que se formam apenas quando necessárias, em presença de algum substrato indutor;

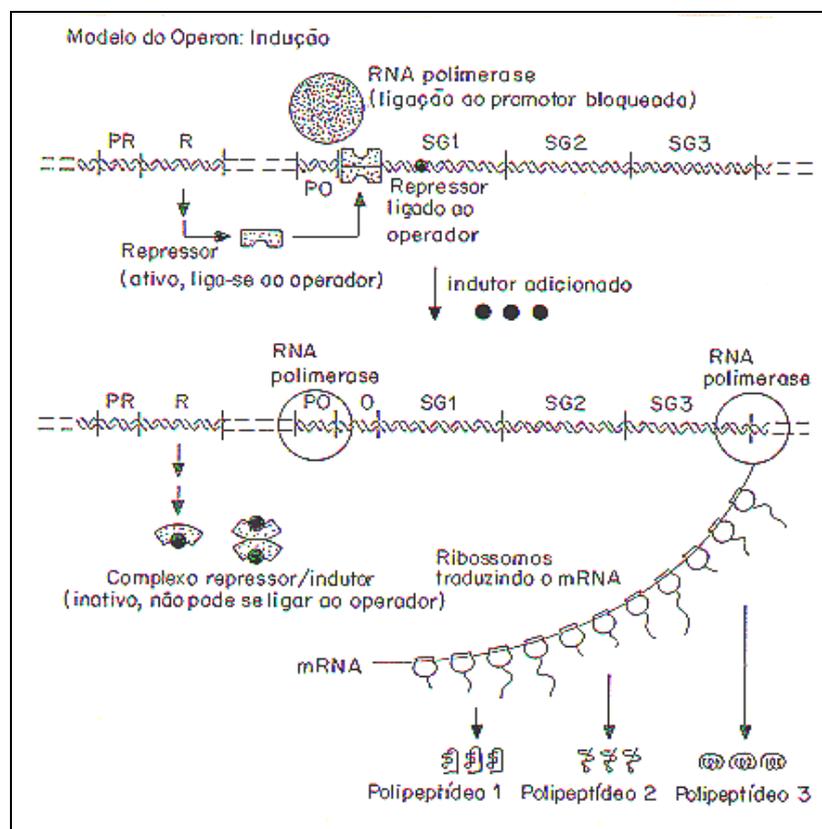
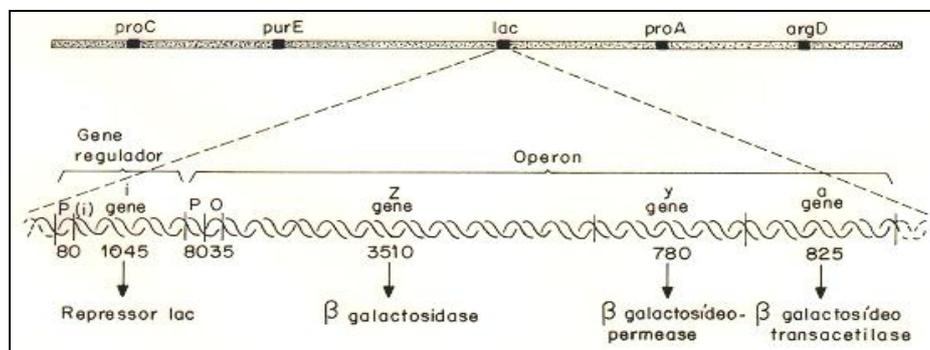
-*Enzimas constitutivas* - São aquelas formadas em quantidades constantes, independente do seu estado metabólico, fazendo parte da maquinaria enzimática básica da célula.

- Mecanismos de controle transcricional

1 - *Sistemas induzíveis* - Ocorre síntese da(s) enzima(s) apenas na presença de um determinado substrato. Normalmente ocorre nas vias de degradação como no catabolismo da lactose em *Escherichia coli*.

Neste caso o operon é composto pelos genes promotor, operador e estruturais. A enzima galactosídeo permease permite a entrada da lactose na célula e a enzima β -galactosidase quebra a lactose em glicose e galactose. Sem lactose como fonte de carbono a produção das duas enzimas é baixíssima, pois uma proteína repressora liga-se ao operador, inibindo a transcrição dos genes estruturais. Com adição de lactose, esta inativa a proteína repressora, liberando o operador e permitindo a transcrição.

Operon Lac de *Escherichia coli*



2 - *Sistemas repressíveis* - Altas concentrações do produto final (excesso) faz com que a(s) enzima(s) pare(m) de ser sintetizada(s), através da inibição da transcrição. Este tipo de controle ocorre sempre nas vias de síntese de algum produto, como na síntese de histidina em *Salmonella typhimurium*.

Neste processo o excesso de histidina funciona como co-repressor, que se liga a uma proteína apo-repressora, formando um repressor ativo que bloqueia a transcrição dos genes responsáveis pela síntese.

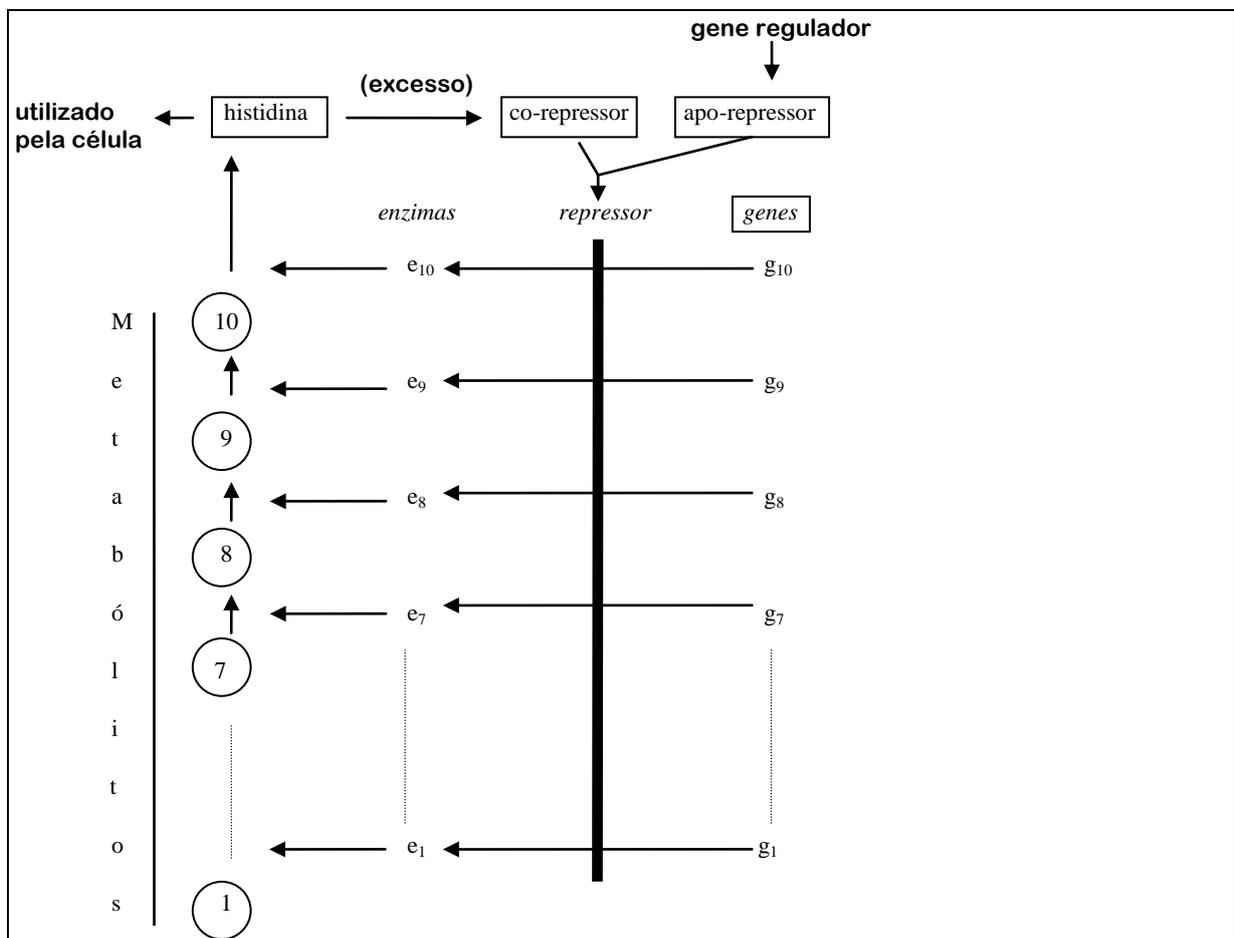
- Mecanismos de controle da tradução

O tempo de vida do mRNA pode ser geneticamente determinado, e pode estar relacionado com o número de ribossomos livres, assim como todas as enzimas participantes dos processos de ativação de aminoácidos, iniciação, alongamento e terminação da síntese, podem ter sua atividade regulada geneticamente.

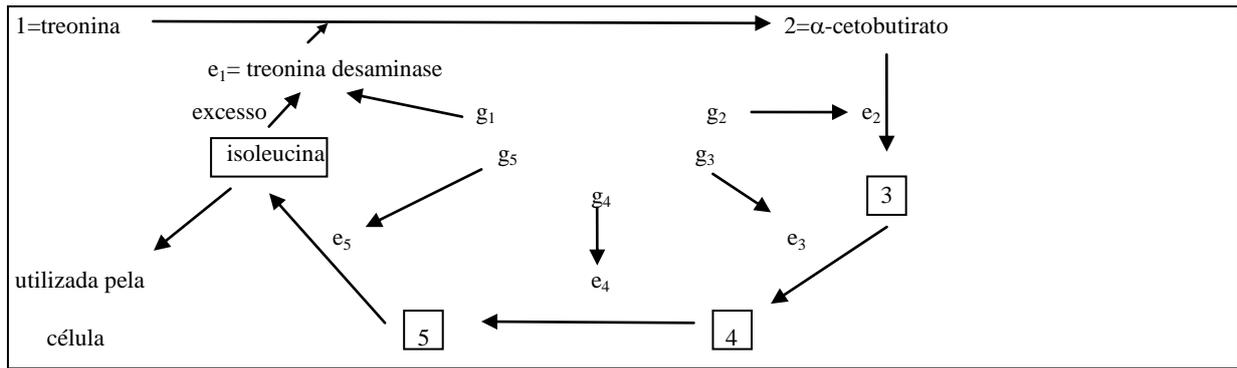
- Controle posterior à tradução

Retroativação ou inibição pelo produto final é um mecanismo regulador que não altera a síntese da enzima mas inibe a sua atividade. Isso ocorrerá quando um determinado produto final esteja sendo produzido em excesso. Esse excesso atuará como inibidor de alguma enzima no processo de síntese. Como exemplo temos a síntese de isoleucina em *Escherichia coli*, onde o excesso de isoleucina inibe a primeira enzima do processo de síntese.

Regulação da síntese da histidina em Salmonella typhimurium



Regulação da síntese de isoleucina em E. coli

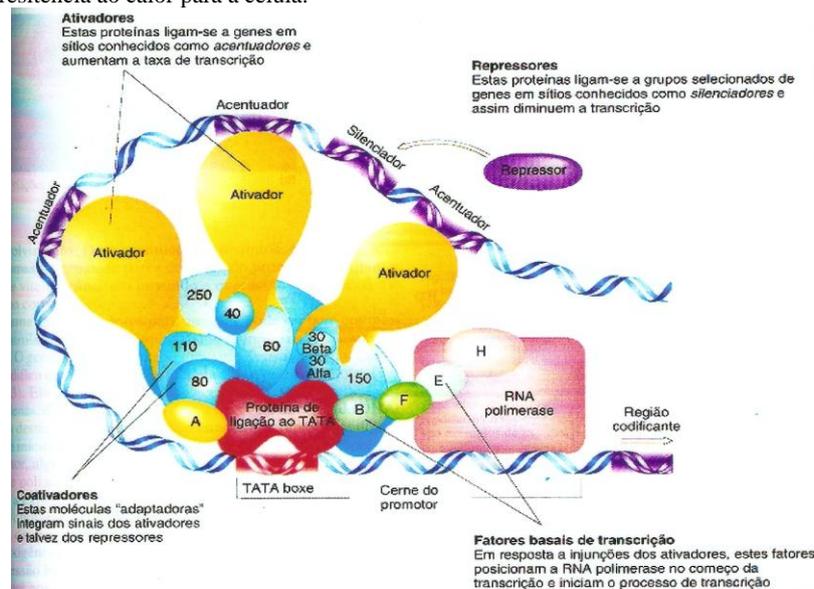


Regulação em eucariotos

Nestes organismos não foi verificada a ocorrência de operons e indução e repressão foram verificadas serem mais lentas. Como existe uma organização dos genes nos cromossomos, envolvendo histonas, estas devem desempenhar um importante papel na regulação gênica, embora uma comprovação mais eficaz ainda não tenha sido feita. Já foi demonstrado que as histonas podem inibir a capacidade do DNA servir como molde para síntese de RNA, pela RNA-polimerase. Como todas as células dos vegetais e animais superiores contêm o genoma completo do organismo mas apenas alguns genes se expressam em cada órgão, é muito provável que as histonas estejam envolvidas na repressão permanente daqueles genes inativos.

Os hormônios constituem um grupo de substâncias que também induzem a atividade enzimática em organismos eucariotos, afetando a transcrição e tradução. Os exemplos marcantes são os hormônios envolvidos no ciclo e diferenciação sexual de animais e plantas.

Estudos mais recentes indicam que a maioria dos genes eucarióticos é controlada em nível de transcrição. Como eles são maiores que os dos procariotos, precisam de uma bateria de fatores reguladores para efetuar a regulação apropriada. Para que a RNA pol II realize a taxa máxima de transcrição é necessária a cooperação de inúmeras sequências de DNA de ação cis (que estão na mesma fita do gene, ao lado), pois o promotor é incapaz de mediar a transcrição eficiente por si mesmo. Temos então os **acentuadores** que são sequências que se ligam a proteínas ativadoras que são capazes de aumentar a taxa de transcrição. Também temos os **silenciadores** que são sequências que se ligam a proteínas repressoras que inibem a transcrição. A ação de cada um depende da ativação das proteínas específicas através de sinais reguladores que ativam os respectivos fatores de transcrição e podem vir de uma fonte muito distante do corpo. Fatores de transcrição específicos são capazes de responder a modificações do meio como **hormônios**, diversos **metabólitos**, **luz**, **temperatura**, **pH**, **salinidade**, etc. As sequências acentuadoras e silenciadoras distam muitos milhares de pares de bases do promotor e operador e a maioria dos modelos inclui algum tipo de dobra do DNA (Figura abaixo). Por exemplo, em levedura a proteína **HSTF** (fator de transcrição) é fosforilada quando as células são expostas a altas temperaturas, passando à sua forma ativa, ligando-se à sequência de DNA adjacente aos promotores dos genes "**heat shock**" promovendo sua transcrição, para formação das proteínas que darão resistência ao calor para a célula.



III. GENÉTICA DE MICRORGANISMOS

Estes organismos haplóides normalmente têm reprodução assexuada, utilizando a mitose para se reproduzirem. Alguns possuem as duas fases, haplóide e diplóide, fazendo a recombinação genética através da meiose. As bactérias têm apenas um cromossomo (DNA circular) e a recombinação depende da introdução de DNA exógeno e incorporação no seu DNA. Nas bactérias também pode ocorrer um segmento de DNA extra-cromossômico, também circular, com capacidade de se auto-duplicar e muitas vezes se inserir no cromossomo principal, denominado de *plasmídeo*. Essa característica mais os três modos de troca de material genético entre células diferentes, são muito importantes para entendermos as bases da engenharia genética.

Conjugação bacteriana

É um processo sexual unidirecional onde há passagem de DNA de uma célula doadora a uma receptora, havendo contato celular. A célula doadora possui um fator F^+ localizado em um plasmídeo. Pode haver transferência apenas do plasmídeo, transformando a célula F^+ em F^- , ou então a transferência de partes do cromossomo principal da célula doadora, quando o plasmídeo está integrado. Algumas células F^+ possuem também um gene chamado *Hfr* que aumenta a frequência de recombinação entre células.

Os passos da conjugação são os seguintes: 1) Contato celular; 2) Transferência do material genético; 3) Pareamento, formando o chamado merozigoto; e 4) Integração do DNA estranho no DNA da célula receptora.

Através da paralisação da conjugação em tempos determinados é possível fazer o mapeamento do cromossomo bacteriano, verificando-se os genes que passam de uma célula para outra.

Transformação bacteriana

É o processo pelo qual um DNA exógeno livre é capaz de penetrar em uma célula receptora e transferir informações genéticas à mesma. Apenas uma fita do DNA penetra em regiões predispostas para tal. Os passos são: 1) Extração do DNA (de fita dupla) da célula doadora (quando se tratar de processo artificial). No processo natural, qualquer DNA livre não desnaturado, existente no meio, pode transformar células. 2) Contato entre DNA e célula receptora, que precisa estar em estado de competência. Isso normalmente ocorre quando há carência de aminoácidos usados na parede celular. Também existe um plasmídeo de competência que produz uma proteína para auxiliar na penetração; 3) Entrada do DNA; 4) Pareamento; 5) Integração.

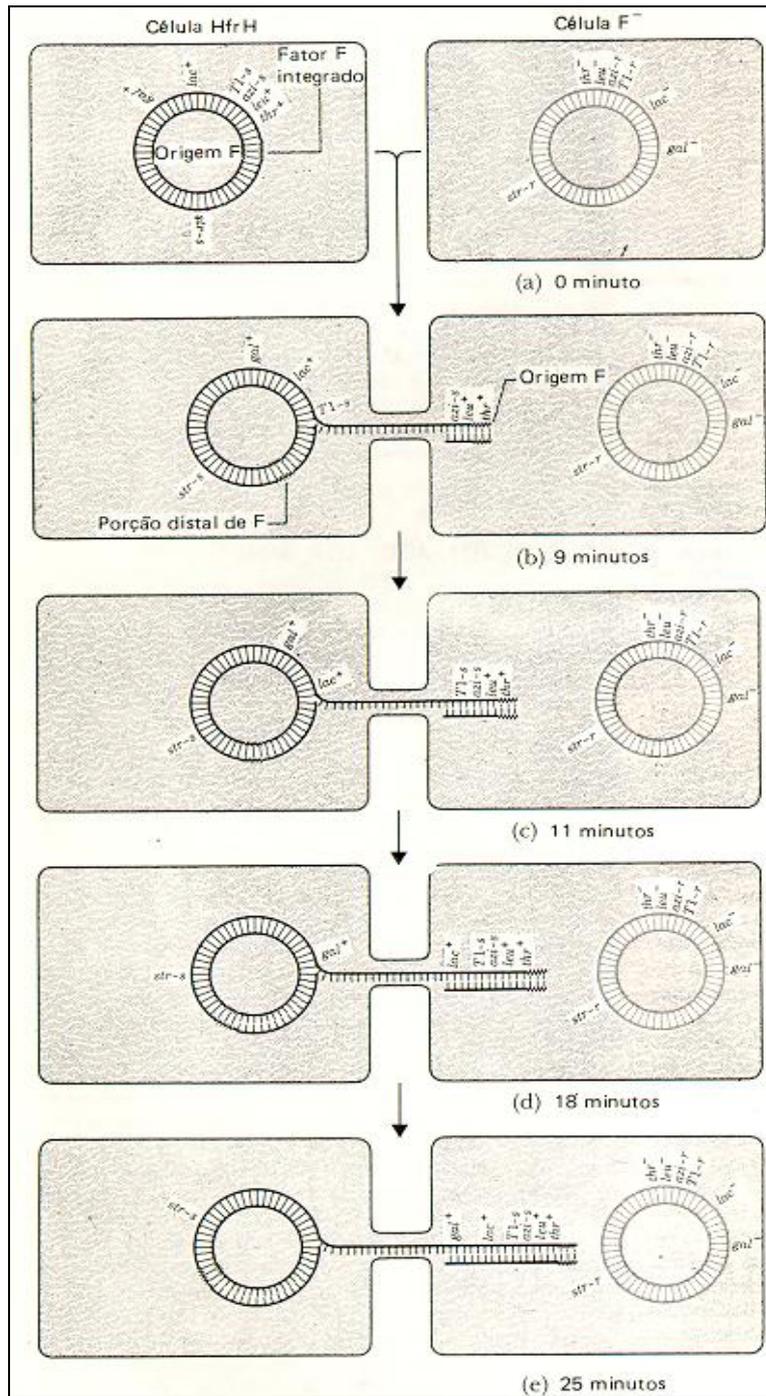
Transdução bacteriana

É a transferência de DNA de uma célula à outra por meio de bacteriófagos. Os fagos podem levar consigo (no momento do empacotamento do seu DNA) material genético da bactéria lisada. No momento da infecção de outras células esse material é introduzido e pode ser incorporado ao DNA da bactéria.

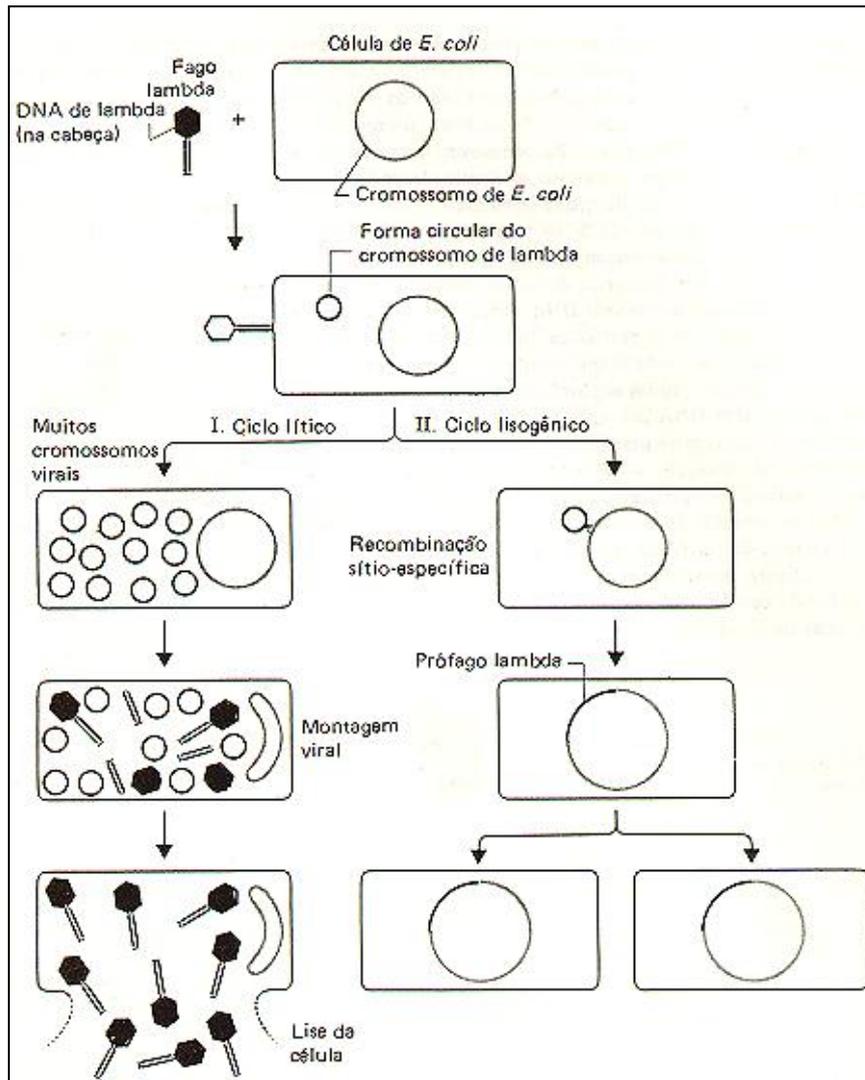
Recombinação em fungos

Além do ciclo sexual (fusão de núcleos e meiose) existe o ciclo parassexual, que compreende a junção de dois núcleos haplóides no mesmo citoplasma (heterocariose) e a perda de cromossomos até voltar ao estado haplóide característico da espécie (haploidização). Também são observados alguns casos de permuta mitótica.

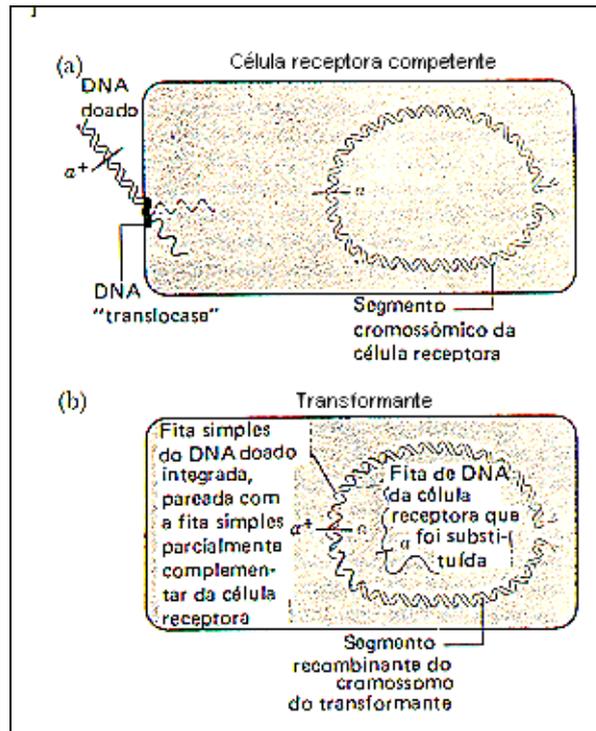
Esquema de uma conjugação bacteriana



Ciclo do bacteriófago



Esquema de uma transformação bacteriana



IV. NOÇÕES DE ENGENHARIA GENÉTICA

- *Biotecnologia* – utilização de organismos no desenvolvimento de novos produtos e processos para a alimentação, saúde e preservação do meio ambiente;
- *Algumas técnicas biotecnológicas* – cultura de tecidos; cultura de protoplastos, clonagem de seres, melhoramento genético convencional e engenharia genética (Tecnologia do DNA recombinante);
- *Cultura de tecidos* – multiplicação celular a partir de um “pedaço de tecido” de um organismo;
- *Protoplastos* – células vegetais ou de microrganismos, sem a parede celular, que foi digerida enzimaticamente. Como possuem somente a membrana plasmática, tomam a forma esférica;
- *Engenharia genética* – processo de criação de novas combinações gênicas pela manipulação direta do DNA;
- *Finalidades principais* - isolamento, modificação, e construção de genes, introdução de genes em organismos, transferência de genes de uma espécie para outra (transformação);
- *Transgênicos* – organismos que contenham material genético (DNA) construído artificialmente, modificado ou retirado de outra espécie, ou seja, que sofreu um processo de transformação. São chamados também de OGMs (Organismos Geneticamente Modificados);

Protocolo geral resumido

- identificação do gene em um doador ou construção;
- clonagem do gene em bactérias (hospedeiro intermediário);
- caracterização do gene no sistema bacteriano;
- modificação do gene se for o caso;

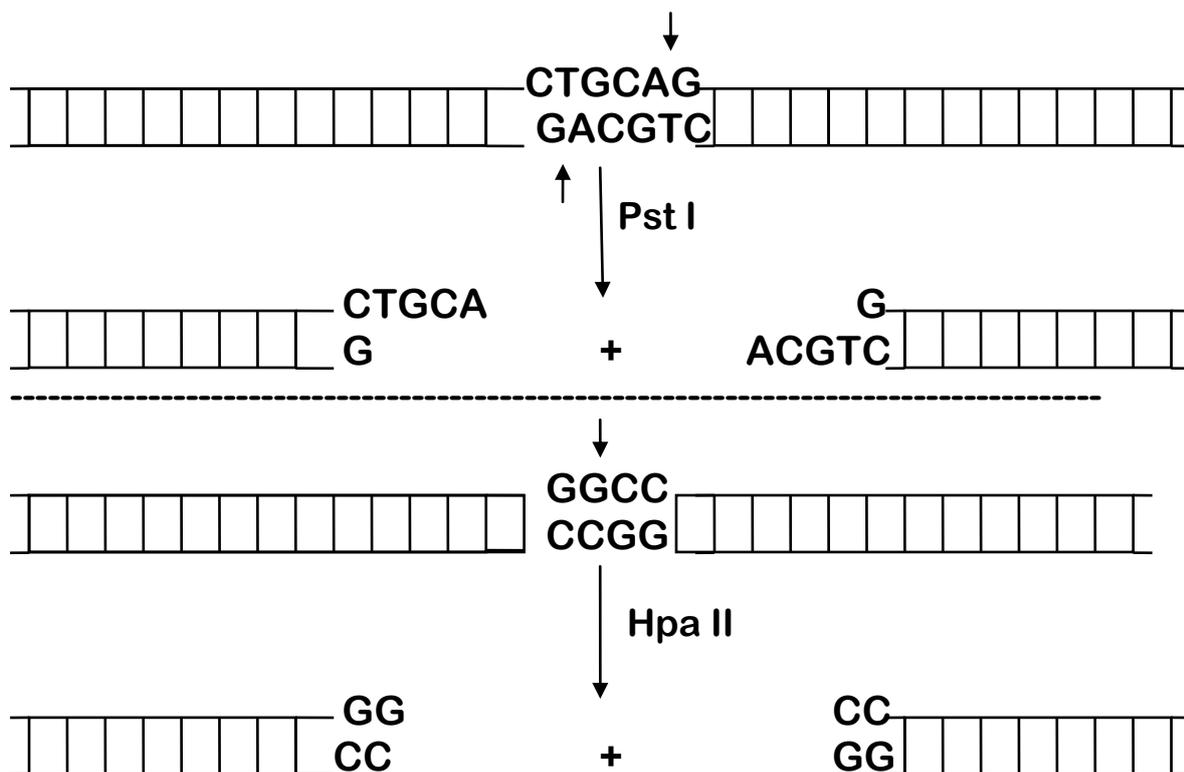
Introdução no hospedeiro alvo (transformação);

- *Clonagem de genes* → obtenção do fragmento de DNA (gene desejado) e colocação em um hospedeiro intermediário.

- *Enzimas de restrição* – Ferramenta cuja descoberta deu início a tudo. São enzimas que cortam o DNA em regiões específicas (normalmente sequências palíndromo-micas).

Enzimas	Sítio de clivagem	Origem
BAM HI	GGATCC	Bacillus amyloliquefaciens
Eco RI	GAATTC	Escherichia coli
Eco RII	GCCTGGC	Escherichia coli
Sal I	GTCGAC	Streptomyces albus
Pst I	CTGCAG	Providência stuarti
Hind III	AAGCTT	Haemophilus influenzae
Hae III	GGCC	Haemophilus aegyptius
Hpa II	CCGG	Haemophilus parainfluenzae
Sma I	CCCGGG	Serratia marcescens
Bgl II	AGATCT	Bacillus globiggi

Mapa de restrição – mapa de um trecho cromossômico ou de DNA, indicando os sítios de ataque de uma ou mais enzimas de restrição.



Outras ferramentas

- DNA polimerase I;
- DNA ligase – algumas podem ligar até DNAs de pontas retas;
- Transcritase reversa – faz DNA a partir de RNA;
- Desoxinucleotidil transferase terminal – adiciona desoxirribonucleotídeos nas extremidades do DNA;
- Vetores – moléculas de DNA de replicação autônoma, que levará o gene obtido para um hospedeiro intermediário e algumas vezes para o hospedeiro final. Normalmente são DNAs virais ou plasmídeos;

Plasmídeo pBR 322:

- um dos vetores mais utilizados;
- possui genes para resistência à ampicilina e à tetra-ciclina que são usados como marcadores);
- possui a região ori de *E. coli*;
- possui sítios de restrição bem conhecidos, muitos que cortam os genes da ampicilina e tetraciclina;

Plasmídeo Ti de Agrobacterium tumefaciens

- usado para transformação do hospedeiro alvo;

Plasmídeo PUC

- possui uma parte do gene de β -galactosidase, cujo produto protéico que converte o substrato x-gal em corante azul;
- Possui um sítio de clonagem múltipla no meio desse gene;

Vetores virais

- maior eficiência na introdução de genes em células do que a transformação;
- Fago lambda (possui trecho que pode ser retirado sem prejudicar a capacidade de replicação e embalagem da molécula).

Cosmídeos

- vetores híbridos de fago λ e plasmídeos, podendo se replicar na célula como um plasmídeo e também ser embalado como o de um fago;
- podem levar DNA com até 45 kb;

Vetores de expressão

- Maioria dos vetores não expressa o gene exógeno;
- Para haver expressão o gene deve ser inserido próximo a sinais bacterianos apropriados de transcrição e tradução (região reguladora de lac, por exemplo);
- Sequências devem ser livres de íntrons, que não são processados pelas bactérias

- *Hospedeiros intermediários* – usados para multiplicar e armazenar o DNA clonado. Normalmente são bactérias;

Obtenção do segmento de dna (gene desejado)

- Trauma mecânico, Enzimas de restrição, Síntese química, Metodologia do cDNA (DNA complementar ao RNA).

Sondas para encontrar genes específicos

Sonda para DNA

- Trecho de DNA clonado, marcada radioativamente ou com corantes fluorescentes, homólogo ao gene desejado. Explora a capacidade de hibridização;
- Fontes - cDNA de tecido que expressa o gene de interesse (Ex: 90% do mRNA de reticulócitos de mamíferos é de β -globina);
- gene homólogo de um organismo correlato;
- a partir de uma seqüência de aminoácidos da proteína conhecida (trecho com menor redundância é melhor, mas quase sempre forma-se um coquetel de oligonucleotídeos);
- RNA livre marcado radioativamente, quando uma população pura pode ser isolada.

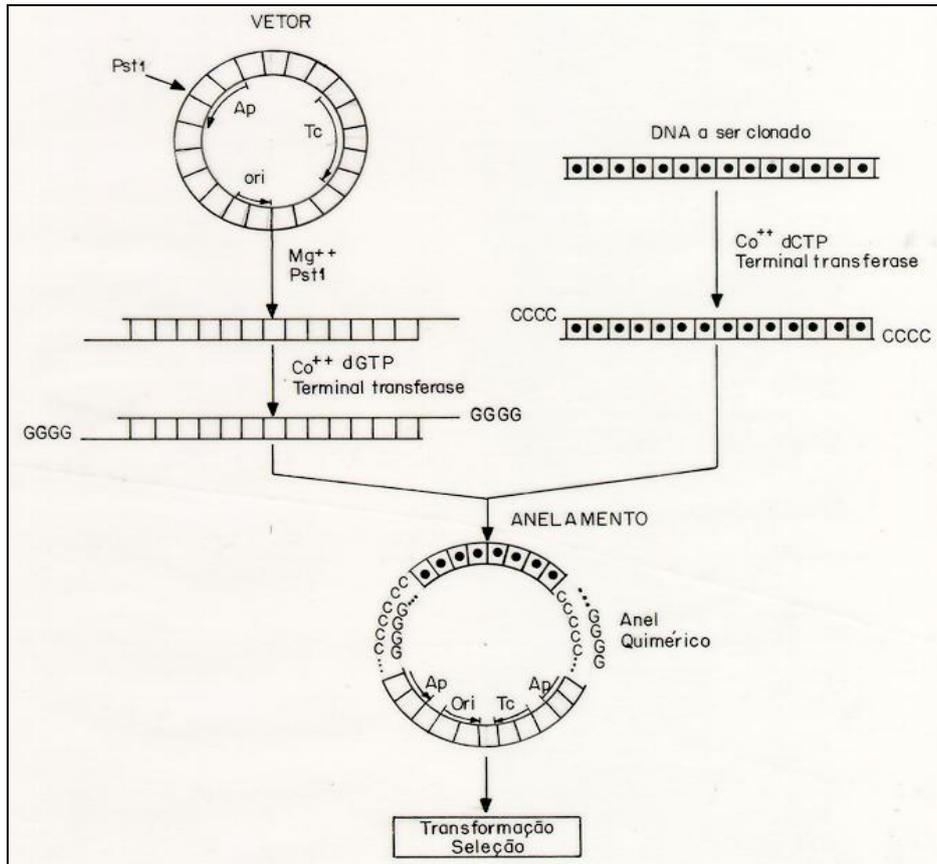
Sonda para proteínas

- Anticorpo usado para triar uma biblioteca de expressão;

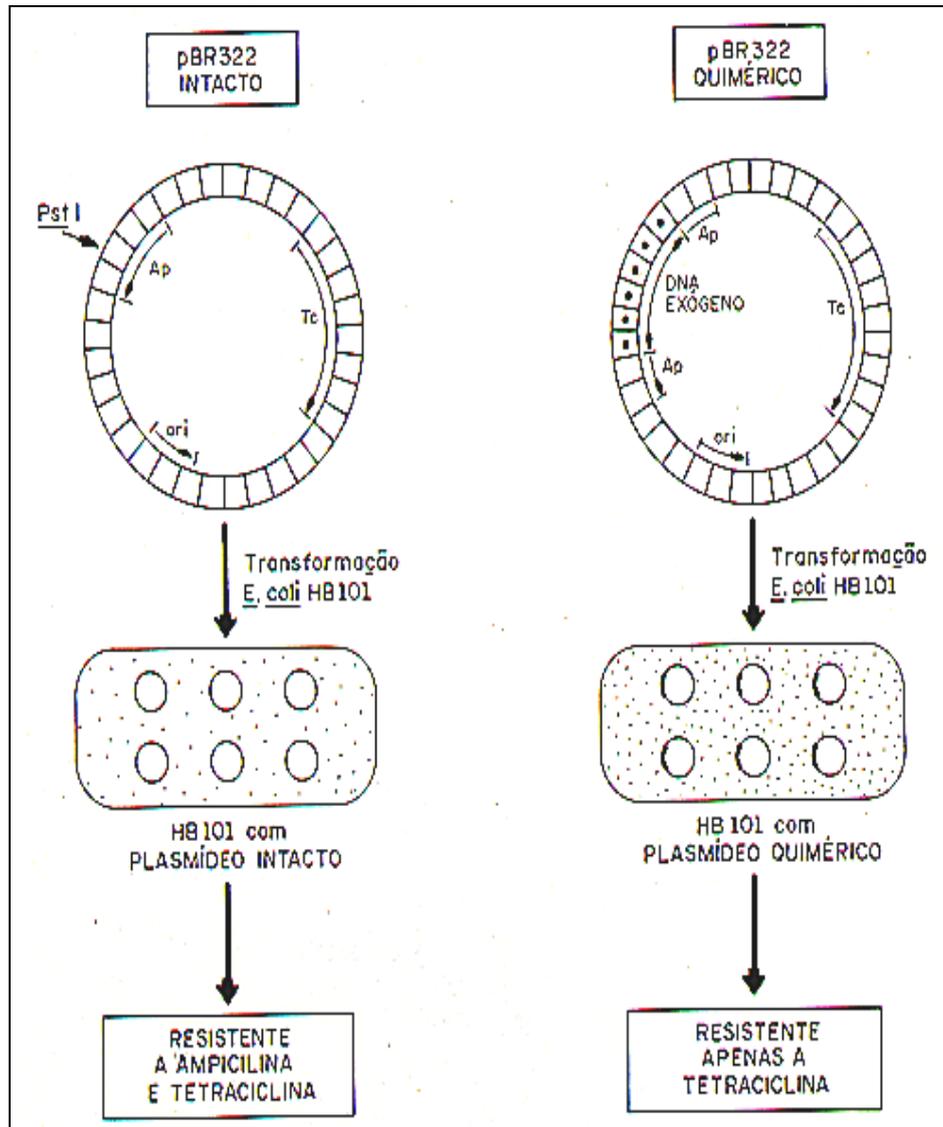
Exemplo - Encontro do gene do albinismo (tirosinase):

- Purificação da tirosinase (método padrão);
- Preparação de anticorpo para tirosinase em coelhos;
- Isolamento de mRNA-tirosinase a partir de células pro-dutoras;
- Construção de cDNAs;
- Biblioteca de vetor de expressão;
- Sondagem com anticorpo e detecção de clones positivos;
- Sequenciamento do cDNA (éxons com 1590 pb);
- cDNA usado para sondar uma biblioteca de DNA genô-mico humano, encontrando o gene intacto (5 éxons e 4 íntrons).

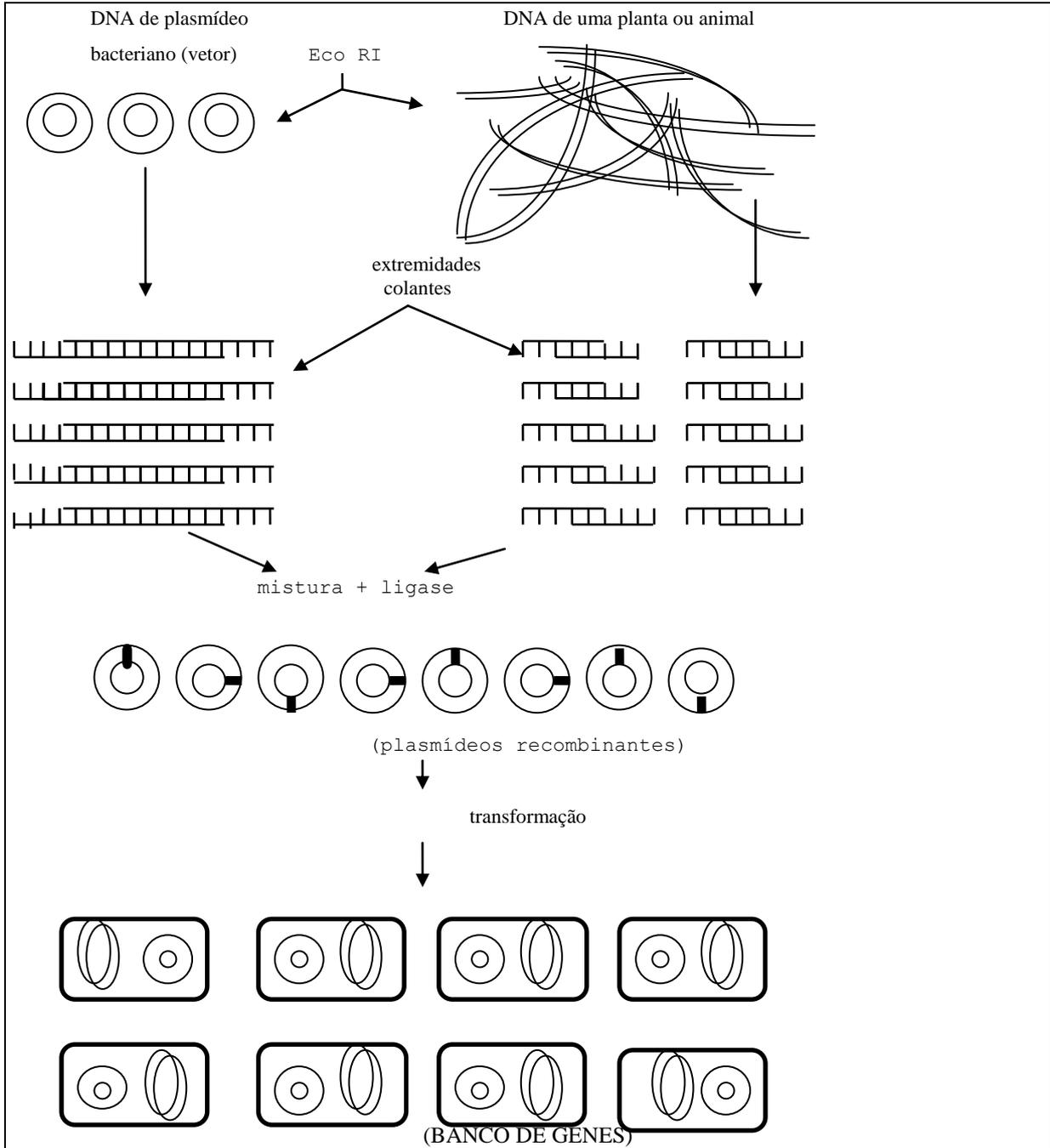
Introdução do DNA desejado em um plasmídeo, formando a molécula quimérica



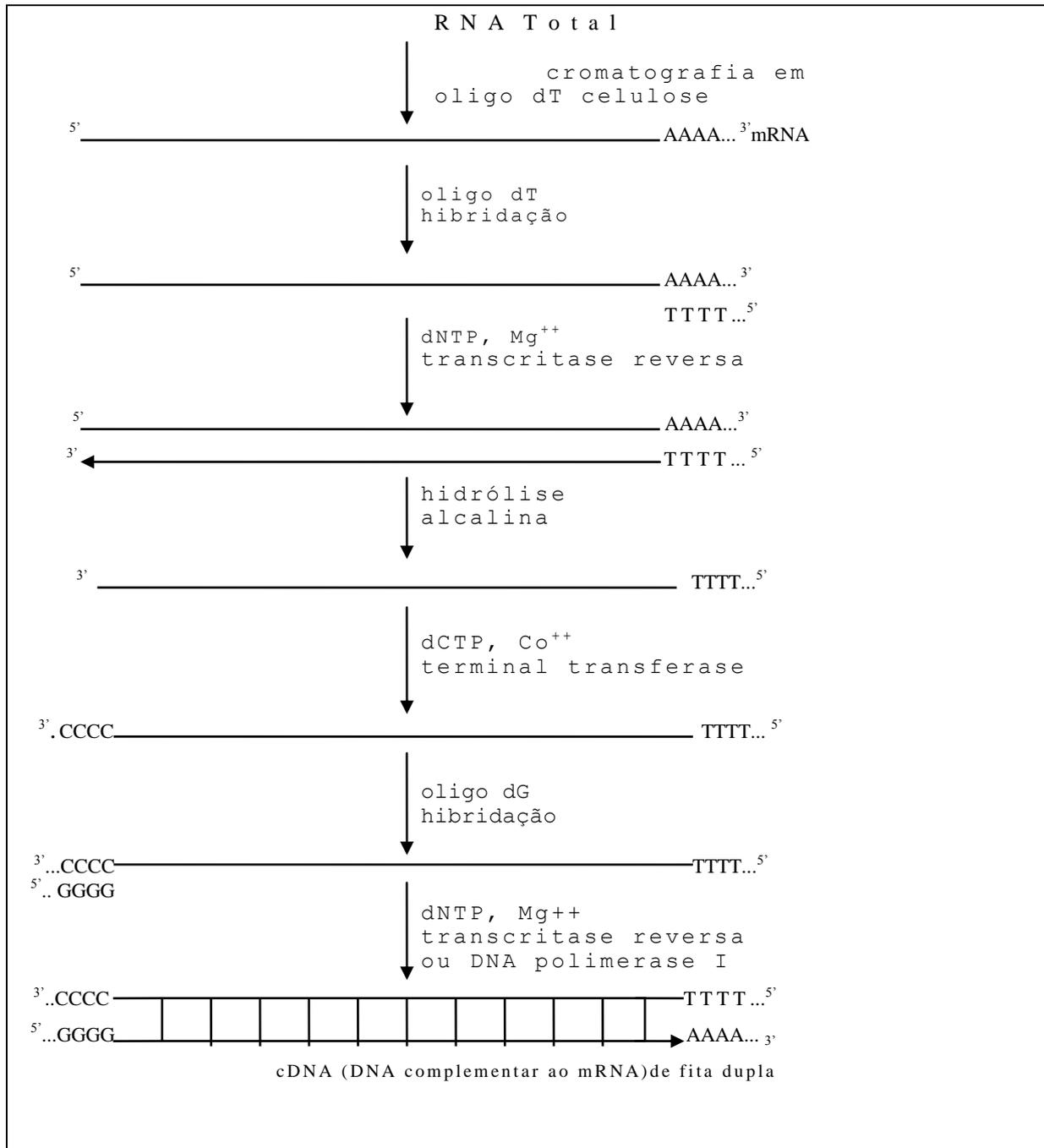
Esquema da seleção de plasmídeos recombinantes



Exemplo de clonagem pelo método "SHOT GUN"



Esquema de obtenção do cDNA



Encontro de clones por complementação funcional

- Biblioteca de DNA selvagem (a+);
- Transformação de mutante a- com essa biblioteca;
- Recuperação do gene a+ do clone bacteriano ou fago bem sucedido.

Clonagem posicional

- Usa a informação sobre a posição do gene no genoma, evitando o trabalho árduo da clonagem do genoma todo;
- Pode usar sonda e/ou complementação;
- Pode usar outro gene clonado ou marcador conhecido que se saiba estar próximo do gene desejado;
- Particularmente útil para clonagem de genes humano que não possuem função bioquímica conhecida.

Clonagem por marcação

- Mutação de um gene pela inserção de um trecho específico de DNA (transformação), que pode ser um transposon;
- Identificação dos mutantes a-;
- Biblioteca de genes sondada com o DNA transformante;
- Obtenção de um fragmento do gene a+ que será usado como nova sonda em biblioteca selvagem.

Métodos de transformação

- Choque de calor (protoplastos);
- Irradiação com dose baixa (protoplastos);
- PEG (polietilenoglicol) (protoplastos);
- Ultrassom (protoplastos);
- Eletroporação (protoplastos e células intactas);
- Microinjeção (animais e tecidos vegetais);

Agrobacterium tumefaciens

Introduz na célula vegetal o plasmídeo Ti (200 kb) que possui uma região chamada T-DNA que é inserido aleatoriamente no genoma do vegetal visando produção de produtos importantes para a bactéria;

Se o gene clonado for inserido no T-DNA, o conjunto será inserido de um modo estável em um cromossomo da planta;

Para inserção do gene há necessidade de desarmá-lo, inserir o gene desejado e infectar segmentos vegetais, protoplastos ou cultura de tecidos.

As células transformadas são selecionadas por meio de um marcador (gene de resistência a antibiótico, o próprio gene a ser inserido, mutante auxotrófico), multiplicadas;

Plantas transgênicas são regeneradas a partir dessas células.

Biolística (gene gun)

O DNA (gene) a ser inserido é misturado com micro esferas de ouro ou tungstênio, aderindo às mesmas;

Essas esferas impregnadas do gene são atiradas em alta velocidade contra tecidos da planta a ser transformada (cultura de tecidos, tecido intacto), utilizando um aparelho chamado “gene gun”;

Essas esferas penetram e atravessam as células podendo deixar o gene no núcleo celular e este poderá se incorporar no genoma da célula;

As células transformadas são selecionadas por meio de um marcador (gene de resistência a antibiótico, o próprio gene a ser inserido, mutante auxotrófico), multiplicadas;

Plantas transgênicas são regeneradas a partir dessas células.

Após o processo de transformação as plantas transgênicas são avaliadas para o fenótipo de interesse, verificando se o gene introduzido está se expressando adequadamente e se pode ser transmitidos a outras da mesma espécie através de cruzamentos.

SEQUENCIAMENTO DO DNA

Método de Fred Sanger – baseado na síntese de DNA na presença de didesoxirribonucleotídeos, que não possuem o grupo hidroxila no carbono 3’;

Os didesoxirribonucleotídeos terminam a síntese quando incorporados à cadeia crescente;

Os passos são os seguintes:

Obtenção de uma população de fragmento unifilamentares (DNA desnaturado) definido;

5’ ATCGCCAAGGCCTT 3’

Marcação em uma ponta com um primer, com marcação radioativa ou fluorescente (emissor de cor diferente para cada reação);

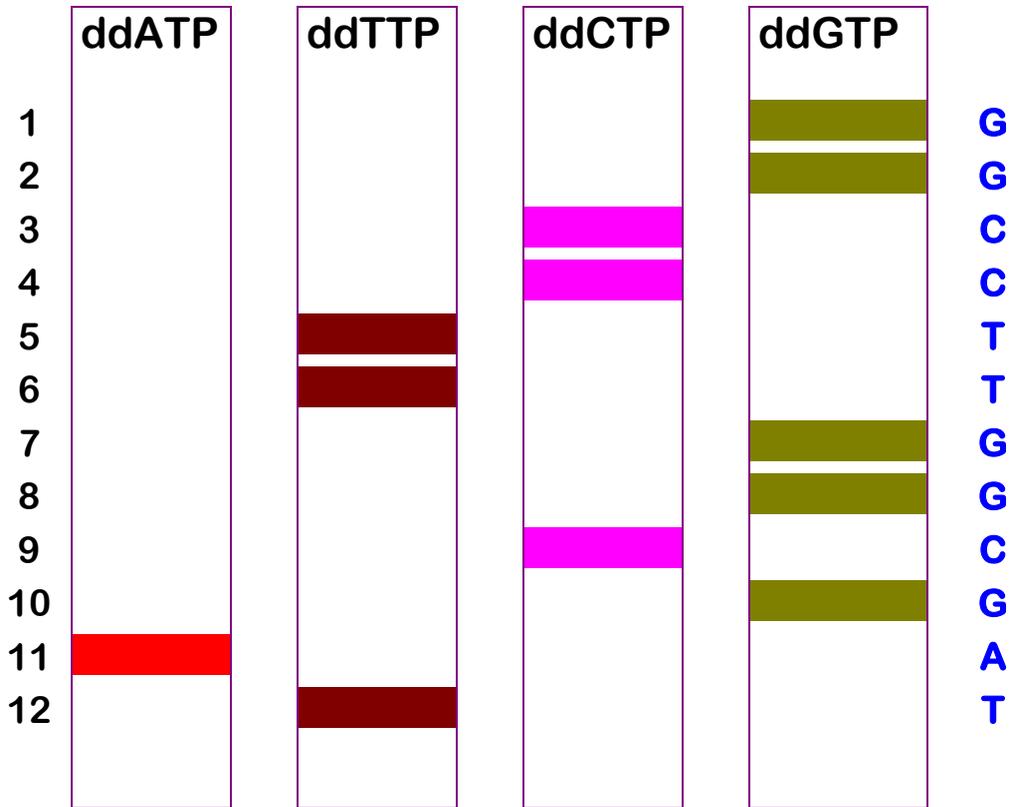
5’ ATCGCCAAGGCCTT 3’
AAA 5’

Estabelecimento de quatro tubos (recipientes) de reação gerando conjunto de moléculas que diferem em tamanho por uma base, que podem ser separadas por eletroforese;

Eletroforese em gel de acrilamida (quatro colunas);

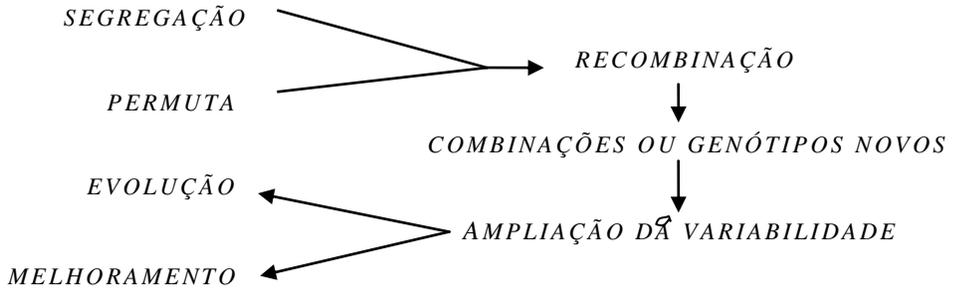
Interpretação do gel (onde houver banda anota-se a base do respectivo ddNTP). A base de cada ponta truncada é determinada no gel por coloração específica;
 As marcações fluorescentes são reconhecidas pelas máquinas de sequenciamento;

<p>a) <i>ddATP + A, G, C e T;</i></p> <p>3' AGC GGTTCCGGAAA 5' 3' TAGCGGTTCCGGAAA 5'</p> <p>b) <i>ddTTP + A, G, C e T;</i></p> <p>3' TCCGGAAA 5' 3' TTCCGGAAA 5' 3' TAGCGGTTCCGGAAA 5'</p>	<p>c) <i>ddCTP + A, G, C e T;</i></p> <p>3' CGGAAA 5' 3' CCGGAAA 5' 3' CGGTTCCGGAAA 5'</p> <p>d) <i>ddGTP + A, G, C e T.</i></p> <p>3' GAAA 5' 3' GGAAA 5' 3' GTTCCGGAAA 5' 3' GGTTCGGAAA 5' 3' GCGGTTCCGGAAA 5'</p>
--	--



V. CONSEQUÊNCIAS DA MEIOSE

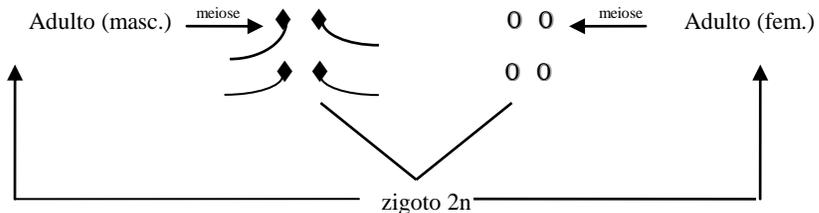
As principais consequências da meiose para a genética são: 1) Redução do número de cromossomos permitindo que, na geração seguinte, os indivíduos tenham o mesmo número de cromossomos da geração anterior; 2) Segregação cromossômica (número de orientações = 2^{n-1} em uma célula $2n$ e 2^n gametas diferentes); 3) Permuta ("crossing-over"). Através do processo meiótico a variabilidade criada pelo processo de mutação é ampliada, aparecendo genótipos novos.



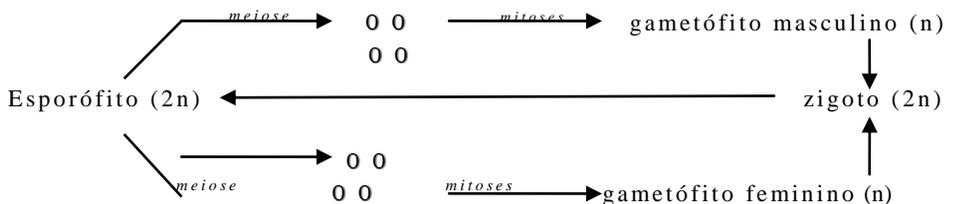
Posição da meiose no ciclo vital

1) Meiose *inicial* ou *zigótica* - o zigoto sofre meiose logo após a sua formação. A maior parte da vida do organismo é haplóide, como ocorre com inúmeros fungos e algas.

2) Meiose *gamética* ou *terminal* - o produto da meiose são os gametas que representam a única fase haplóide do organismo, como ocorre nos animais e plantas superiores.



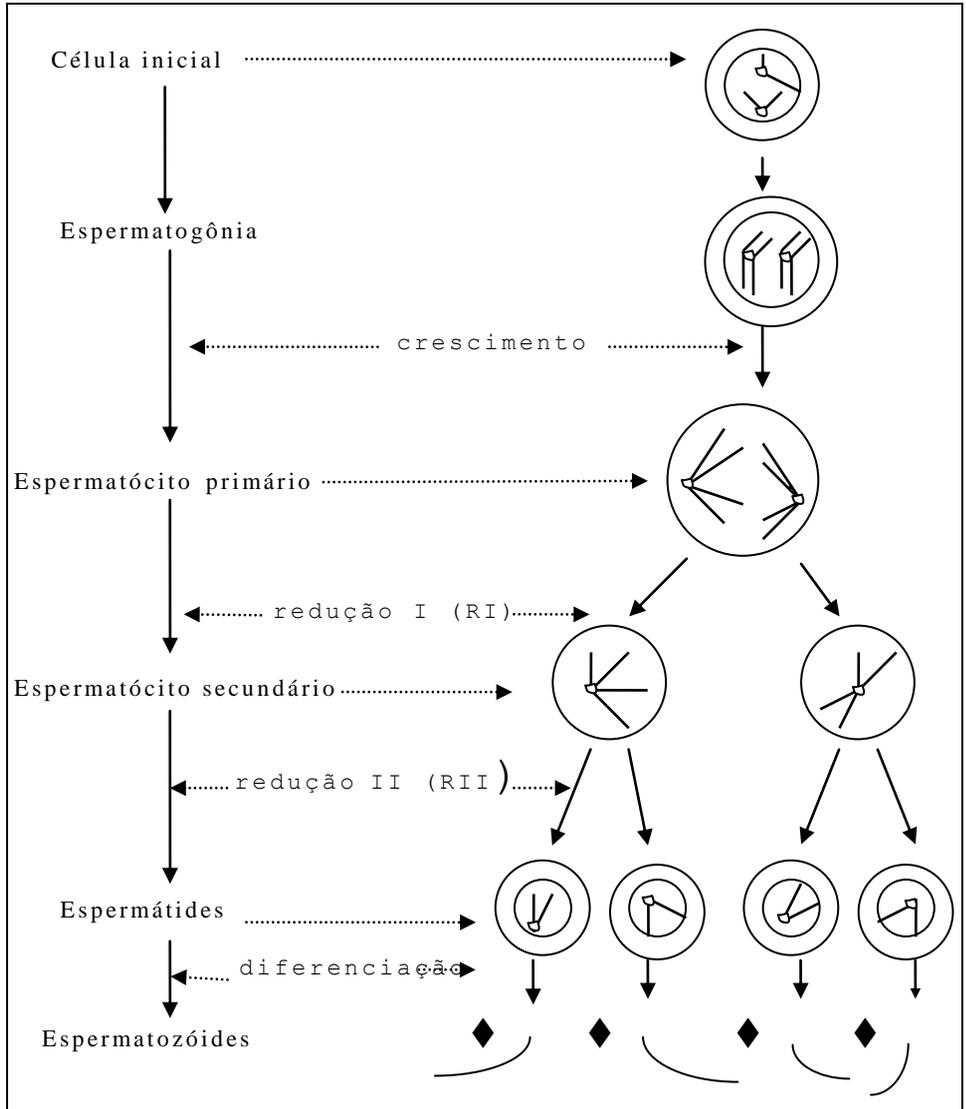
3) Meiose *intermediária* ou *espórica* - o produto da meiose são esporos que após algumas divisões, as vezes formando um organismo completo, diferenciam-se em gametas para realizar a fecundação. Conforme o organismo o esporófito ou o gametófito constitui a fase principal da vida. É o processo comum nos vegetais superiores.



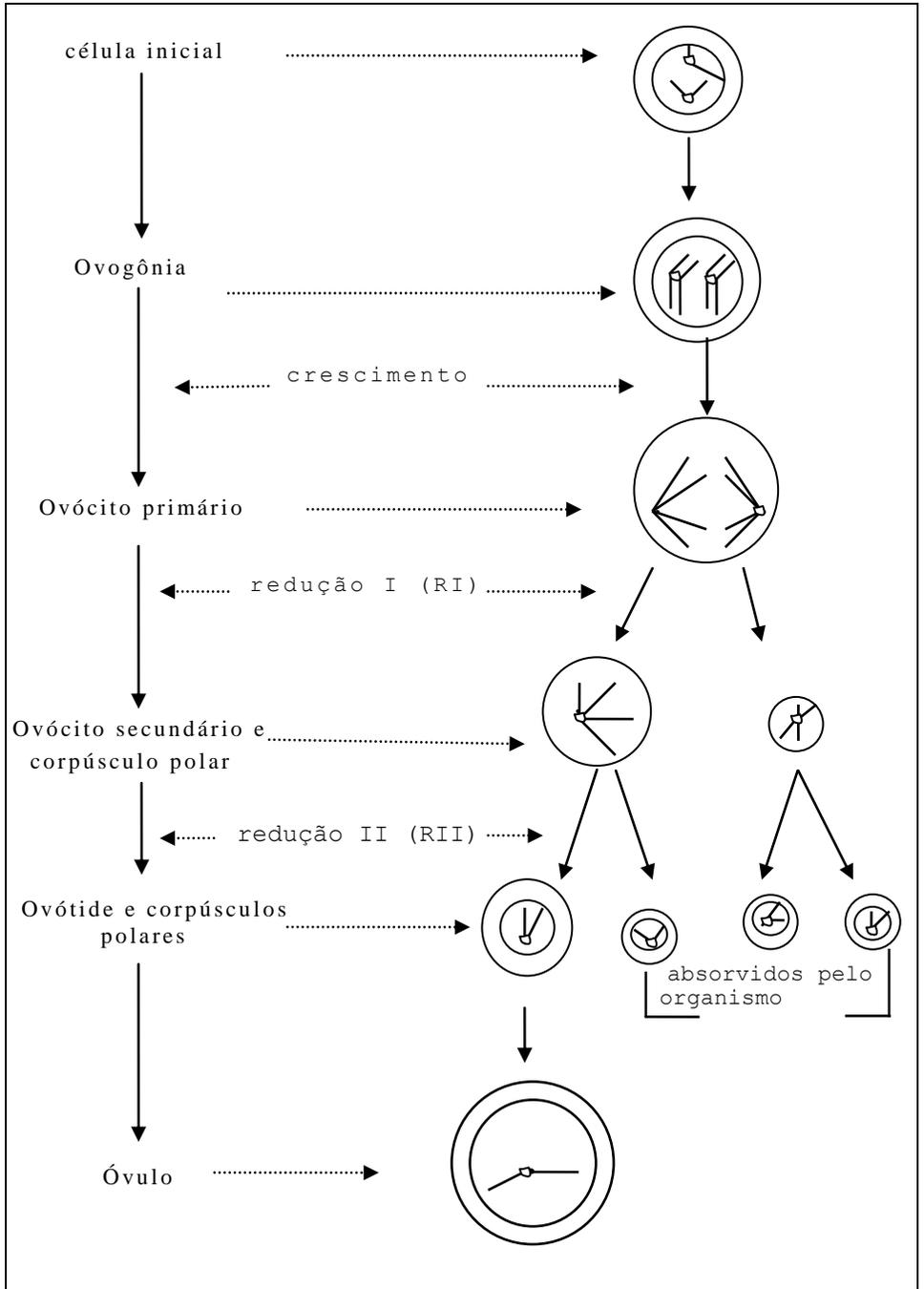
O processo de formação dos gametas é denominado gametogênese, recebendo nomes específicos nos animais e vegetais e conforme o sexo do indivíduo. A formação dos

espermatozoides nos animais denomina-se Espermatogênese e a formação dos óvulos denomina-se ovogênese. Nos vegetais ocorre alguma variação entre grupos taxonômicos diferentes, mas a formação dos grãos de pólen denomina-se Microsporogênese, enquanto a formação dos óvulos denomina-se Macrosporogênese ou Megasporogênese.

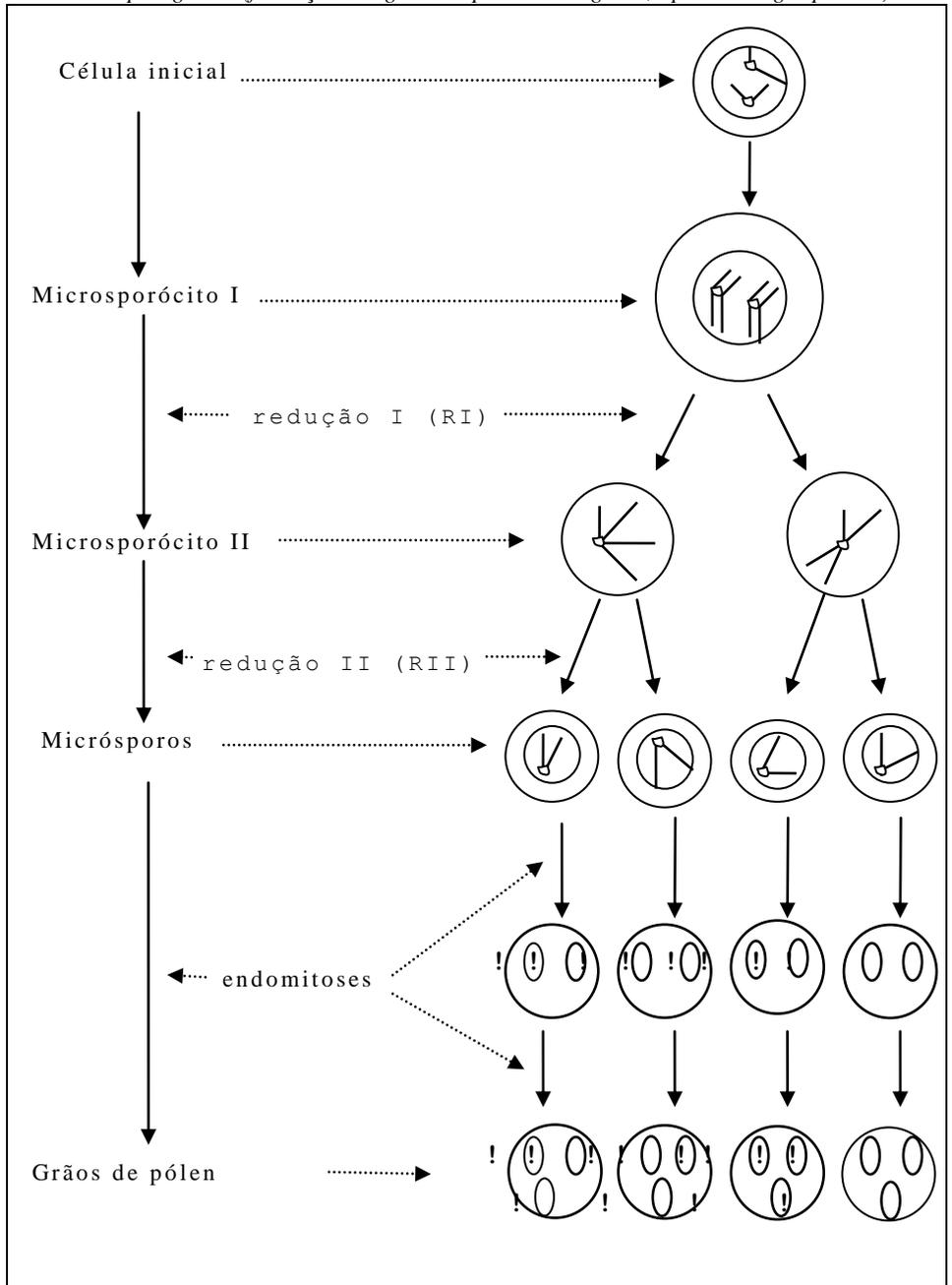
Espermatogênese (formação dos espermatozoides nos animais)



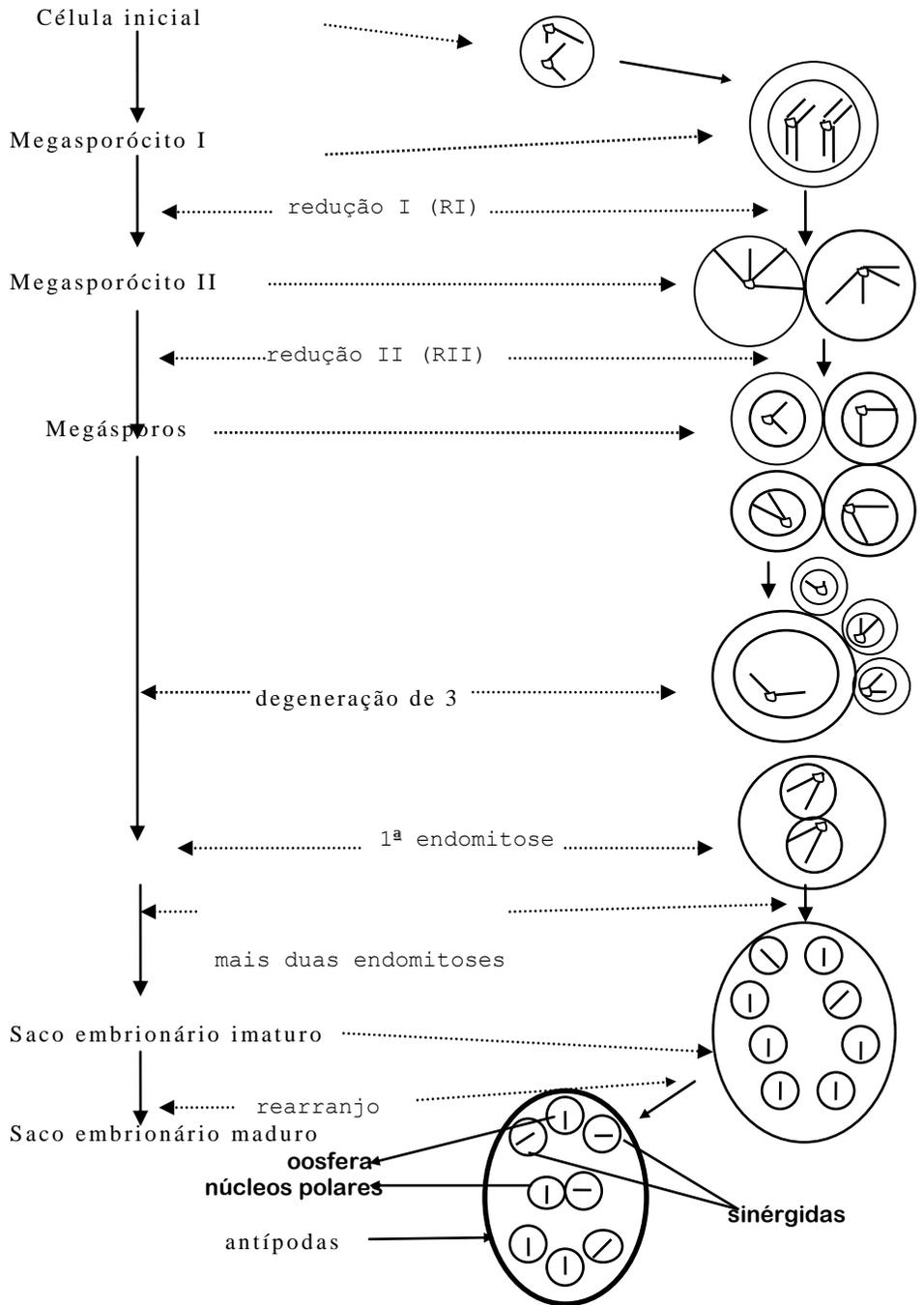
Ovogênese (formação dos óvulos nos animais)



Microsporogênese (formação dos grãos de pólen nos vegetais, típico de Angiospermas)



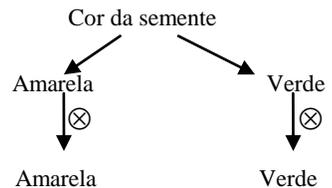
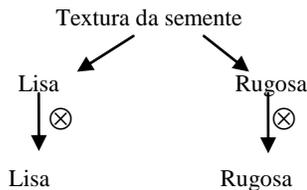
Megasporogênese ou macrosporogênese (formação do saco embrionário em Angiospermas)



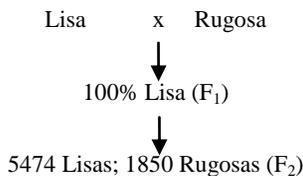
VI. SEGREGAÇÃO MONOFATORIAL E INDEPENDENTE

Em 1857 MENDEL realizou cruzamentos e autofecundações em ervilha, observando 7 caracteres. Cada caráter foi testado individualmente e Mendel chamou de fator o agente responsável por cada uma.

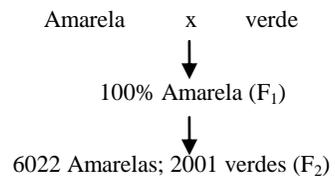
Caráter	Fenótipo
Textura da semente	lisa - enrugada
Cor dos cotilédones	amarelo - verde
Cor da casca	marrom - branca
Tipo de vagens	retas - lobuladas
Posição das vagens	axiais - terminais
Comprimento do caule	longo - curto



Textura das sementes



Cor das sementes



Mendel definiu dominância como sendo o fenômeno pelo qual um fenótipo aparecia, embora dois fatores estivessem presentes. O fator não dominante foi chamado recessivo. Identificou também 3 tipos de plantas possíveis geneticamente, postulando e provando que cada uma possuía dois fatores que eram separados na formação dos gametas (segregação).

1ª Lei de Mendel

"Os genes pareados (pares alélicos) separam-se e são distribuídos a diferentes células sexuais".

- Definição de terminologias e nomenclaturas

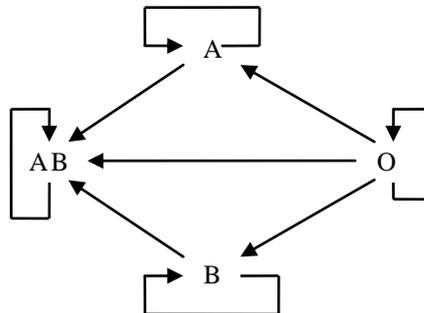
- F_1 - indivíduos resultantes do cruzamento de dois outros;
- F_2 - indivíduos resultantes do inter cruzamento dos F_1 s, ou da autofecundação quando isso for possível;
- *Cruzamento teste* - cruzamento de um indivíduo qualquer com o homocigoto recessivo;
- *Retrocruzamento* - cruzamento da geração ou indivíduo F_1 com um dos pais;
- *Linha ou linhagem pura* - grupo de indivíduos idênticos e homocigotos para todos os locos;
- *Loco* - local, no cromossomo, onde um determinado gene se coloca;
- *Alelos* - genes (fatores) que podem ocupar o mesmo loco cromossômico, sendo os responsáveis pelas variações de um mesmo caráter;

- *Homozigoto* - indivíduo portador de dois alelos idênticos em locos homólogos;
- *Heterozigoto* - indivíduo portador de dois alelos diferentes em locos homólogos;
- *Fenótipo* - aparência, aquilo que se vê ou se mede no indivíduo. É a expressão visual do genótipo do indivíduo;
- *Genótipo* - conjunto gênico que o indivíduo possui (no global ou para caráter(es) e/ou locos específico(s));
- *Recessivo* - alelo que se expressa somente quando em estado homozigoto, porque não é transcrito ou porque o seu produto protéico não é funcional;
- *Dominante* - alelo que se expressa tanto em homozigose quanto em heterozigose, mascarando a expressão do recessivo, pois ele é transcrito e seu produto é funcional;
- *Codominantes* - alelos que se expressam conjuntamente em heterozigotos, sendo dois genes alternativos cujos produtos protéicos são funcionais ou a quantidade de um não encobre a falta do produto do outro;
- *Alelos letais* - aqueles cuja manifestação fenotípica é a morte do indivíduo. Essa manifestação pode ocorrer na fase pré-natal ou pós-natal. Algumas vezes há efeito fenotípico nos heterozigotos, mostrando ação codominante. Como exemplo temos o caráter quantidade de clorofila em boca de leão, onde CC é verde normal, Cc é verde pálido e cc é albino (letal);
- *Alelos múltiplos* - é o fenômeno de ocorrência de mais de dois alelos (alternativas) para o mesmo loco. Como exemplo temos o sistema de grupos sanguíneos ABO e a cor da pelagem em coelhos.

Sistema de grupos sanguíneos ABO			
Genótipos	Reação do soro		Fenótipo (Grupos sanguíneos)
	Anti-A	Anti-B	
$I^A I^A, I^A i$	+	-	A
$I^B I^B, I^B i$	-	+	B
$I^A I^B$	+	+	AB
ii	-	-	O

I^A - antígeno A; I^B - antígeno B; i - não produz antígeno; $I^A = I^B > i$

Esquema das possibilidades de doação e recepção em uma transfusão de sangue



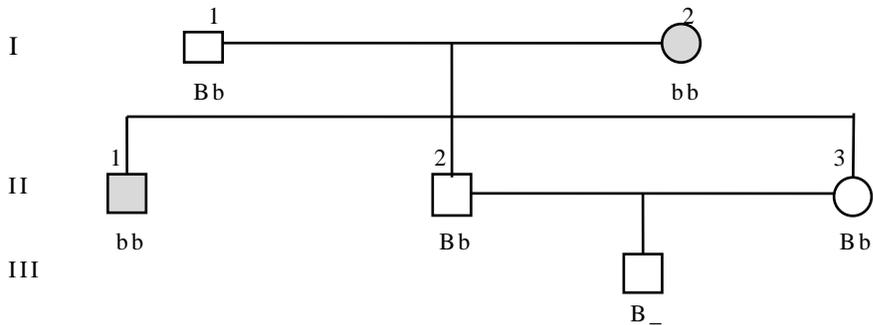
Na cor da pelagem em coelhos o alelo C é responsável pelo fenótipo Aguti (preto ou marrom escuro com uma faixa amarela próxima a extremidade); Alelo c^{ch} pelo fenótipo chinchila (cinza claro sem a faixa amarela); Alelo c^h pelo fenótipo himalaia (branco com orelhas, cauda, focinho e patas marrom ou preto); Alelo c pelo fenótipo branco (albino). Ocorre dominância completa na seguinte ordem: $C > c^{ch} > c^h > c$.

Em uma série alélica temos:

$$N^{\circ} \text{ de genótipos diferentes} = m(m+1)/2;$$

$$N^{\circ} \text{ de genótipos heterozigotos} = m(m-1)/2$$

- *Análise de "pedigree" (heredograma)* - relação sistemática dos ancestrais de um determinado indivíduo, ou árvore genealógica de um grupo numeroso de indivíduos.



Indivíduos	Fenótipo	Genótipo
I1	preto	Bb
I2	branco	bb
II1	branco	bb
II2	preto	Bb
II3	preto	Bb
III1	preto	B_

Após estudar caracteres isolados, Mendel passou a considerar 2 caracteres ao mesmo tempo, para verificar se uma influenciava a segregação da outra;

Lisa-amarela x Rugosa-verde



F₁ Lisa-amarela



F₂ 423 lisas (3/4) : 133 rugosas (1/4) 416 amarelas (3/4) : 140 verdes (1/4)

Considerando os dois caracteres verificou a seguinte proporção, em 556 sementes F₂ e 207 sementes do cruzamento teste do F₁:

Fenótipo	F ₂		Cruzamento teste do F ₁	
	frequência observada	frequência esperada	frequência observada	frequência esperada
Amarela-Lisa	315	312,75 (9/16)	55	51,75 (1/4)
Verde-Lisa	108	104,25 (3/16)	51	51,75 (1/4)
Amarela-Rugosa	101	104,25 (3/16)	49	51,75 (1/4)
Verde-Rugosa	32	34,75 (1/16)	52	51,75 (1/4)

2ª lei de Mendel

"Os membros (alelos) de diferentes locos segregam-se independentemente nos gametas"

Supondo cada loco em um cromossomo (independência), 2 alelos por loco e dominância completa, temos os seguintes números esperados para gametas, genótipos e fenótipos:

Nº de locos	Gametas diferentes em F ₁	Genótipos diferentes em F ₂	Genótipos homocigotos em F ₂	Genótipos heterocigotos em F ₂	Fenótipos diferentes em F ₂
1	2	3	2	1	2
2	4	9	4	5	4
3	8	27	8	19	8
:	:	:	:	:	:
:	:	:	:	:	:
n	2 ⁿ	3 ⁿ	2 ⁿ	3 ⁿ -2 ⁿ	2 ⁿ

Devemos considerar que as proporções 9:3:3:1 em F₂ e 1:1:1:1 no cruzamento teste foram e continuam sendo verdadeiras para os casos de dois locos com dominância completa. Alterações nessas proporções, quando consideramos 2 locos, ocorrem devido à codominância, presença de letais ou interações não alélicas (epistáticas), como mostrado abaixo.

1º loco	2º loco	proporção. fenotípica. em F ₂
Dominância	Codominância	3:6:3:1:2:1
Codominância	Codominância	1:2:1:2:4:2:1:2:1
Dominância	Recessivo letal codominante	3:1:6:2
Codominância	Recessivo letal codominante	1:2:1:2:4:2
Recessivo letal codominante	Recessivo letal codominante	4:2:2:1

Interação gênica

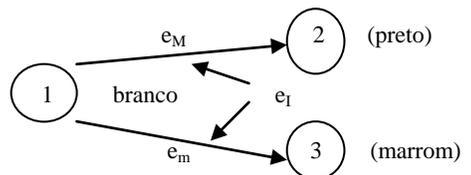
Este termo define a relação que existe entre dois genes (sequências de DNA), sejam eles alelos ou não.

As *interações alélicas*, ou seja, entre genes que do mesmo loco cromossômico, podem ser de dominância, codominância e sobredominância. Um exemplo de codominância é o gene bar em *Drosophila*, onde o genótipo B⁺B⁺ possui o fenótipo 800 facetas no olho; o genótipo B⁺b possui o fenótipo 250 a 500 facetas no olho; e o genótipo BB possui o fenótipo 60 facetas no olho. A sobredominância caracteriza-se pelo fato do heterocigoto mostrar um fenótipo que extrapola um dos pais. É mais difícil de ser observada em caracteres governados por poucos locos gênicos. Um exemplo é a quantidade de pigmento fluorescente no olho de *Drosophila*, onde o genótipo WW possui o fenótipo sem pigmento; o genótipo W⁺W possui uma grande quantidade de pigmento; e o genótipo W⁺W⁺ possui uma pequena quantidade de pigmento.

As *interações epistáticas* caracterizam a relação entre genes de locos diferentes. Alguns autores consideram outros tipos de interações que aqui são todas englobadas como epistáticas.

a) *Epistasia dominante* (proporção fenotípica 12:3:1 em F₂) - somente quando o genótipo do indivíduo é homocigoto recessivo em um loco os alelos de um outro loco podem se expressar. Como exemplo vejamos a cor da pelagem em cães, onde a enzima codificada pelo gene I (e_I) inibe as enzimas codificadas pelos genes M (e_M) e m (e_m) evitando que o substrato 1 seja transformado em substrato 2 ou 3 que daria o fenótipo preto ou marrom.

I ___ → branco
 ii M_ → preto
 ii mm → marrom



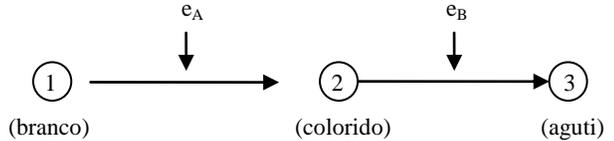
b) *Epistasia recessiva* (proporção fenotípica 9:3:4 em F₂) - somente quando o genótipo do indivíduo possui um alelo dominante em um loco os alelos do outro loco são capazes de se expressar. Tomemos como exemplo a coloração da pelagem em camundongos. Se não existir a

enzima e_A , o substrato 1 não é transformado e dará a cor branca independente se existir ou não a enzima e_B .

$A_B_ \rightarrow$ aguti

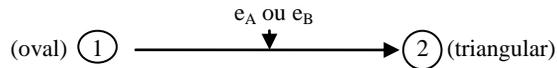
$A_bb \rightarrow$ colorido

$aa__ \rightarrow$ branco



c) *Genes duplos com efeito cumulativo* (proporção fenotípica 9:6:1 em F_2) - a condição dominante (homo ou heterozigota), em qualquer um dos locos, produz o mesmo fenótipo. Cada loco, com pelo menos um alelo dominante produz uma unidade. Tomemos como exemplo a coloração de sementes em trigo, onde os genes R e B codificam para o mesmo produto ou pelo menos com a mesma função. Portanto o genótipo $R_B_$ é vermelho porque possui duas vezes mais pigmento vermelho que os genótipos R_bb e $rrB_$ que são marrons. Se todos os alelos são recessivos não há produção de pigmento e o fenótipo é branco.

d) *Genes dominantes duplos* (proporção fenotípica 15:1 em F_2) - a presença de um alelo dominante em qualquer um dos locos produz o mesmo fenótipo, não havendo efeito cumulativo. A forma das capsulas das sementes de "bolsa de pastor" podem ser triangulares ($A_ __$ ou $__ B_$) ou ovais ($aabb$).

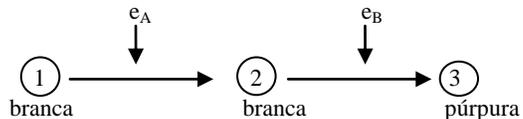


e) *Genes recessivos duplos* (proporção fenotípica 9:7 em F_2) - a ocorrência de homozigose recessiva, em qualquer um dos locos, determina o mesmo fenótipo. A coloração das flores em ervilha pode ser branca (genótipos $aa__$ e $__bb$) ou púrpura (genótipo $A_B_$). Neste caso há necessidade das duas enzimas (e_A e e_B) para se chegar ao substrato 3 que é o pigmento púrpuro.

$aa__ \rightarrow$ branca

$__bb \rightarrow$ branca

$A_B_ \rightarrow$ púrpura



Pleiotropia - é o fenômeno pelo qual um gene controla dois ou mais caracteres ao mesmo tempo. Em mamona, por exemplo, o genótipo $Dr_$ condiciona o fenótipo normal (semente ovalada, germinação rápida, crescimento rápido, florescimento normal, muitas sementes e crescimento normal) enquanto o genótipo $drdr$ apresenta semente redonda, germinação lenta, crescimento lento, florescimento tardio, poucas sementes, e crescimento tipo moita.

Genes modificadores - genes que influenciam os efeitos fenotípicos de outros genes (maiores) de uma maneira quantitativa. O gene braquítico (br_2) em milho reduz o comprimento dos internódios da planta, reduzindo a sua altura. No entanto em uma população de plantas br_2br_2 , embora a altura média seja baixa, encontramos uma grande variação na altura., devido a outros genes de pequeno efeito que alteram a expressão do br_2 .

VII. TESTE DO χ^2 (QUI-QUADRADO)

Em genética, como em muitas outras ciências, os resultados numéricos observados não coincidem exatamente com aqueles esperados com base em alguma hipótese. Temos então que verificar se os valores observados se ajustam às proporções esperadas, ou seja, se os desvios em relação ao esperado são significativos ou são devidos simplesmente ao acaso. Os testes estatísticos, no caso o χ^2 , são empregados para estimar o valor da probabilidade de um determinado desvio ser devido simplesmente ao acaso. Quanto maior o valor da probabilidade, maior é a chance que os desvios sejam devidos aos fatores do acaso.

O teste do χ^2 é essencialmente um mecanismo pelo qual os desvios de uma proporção hipotética são reduzidos a um único valor, baseado no tamanho da amostra. Este valor está associado a uma probabilidade de que a sua ocorrência seja ao acaso. As fórmulas utilizadas para o cálculo de χ^2 são as seguintes:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^n \left[\frac{(f_o - f_e)^2}{f_e} \right]; \quad \chi^2 = \sum_{i=1}^n \left[\frac{(|f_o - f_e| - 1/2)^2}{f_e} \right]; \text{ onde } n \text{ é o número de classes, } f_o$$

a frequência observada e f_e a frequência esperada em cada classe. A segunda fórmula é a chamada correção de Yates, utilizada quando se têm apenas 1 grau de liberdade ou frequências esperadas menores que 20 indivíduos em alguma das classes.

Grau de liberdade é o número de variáveis (classes) independentes. Em uma amostra dividida em n classes, $n-1$ classes podem assumir qualquer valor, porém a última terá um valor conhecido para completar o número total de indivíduos. Em 100 lançamentos de uma moeda, por exemplo, uma vez determinado o número de caras, o número de coroas é automaticamente obtido. Portanto duas classes (cara e coroa) menos 1 dará 1 G.L. Se tivermos 3 classes (branco, preto, ver-de), duas delas podem assumir qualquer número de indivíduos. Porém a partir daí a terceira terá um número automaticamente definido ($3-1=2$).

Quando se tem uma população e uma hipótese sobre uma proporção qualquer que esteja ocorrendo nessa população, podemos retirar uma amostra e testar a proporção esperada segundo a hipótese lançada. Para isso devemos ter a frequência observada da amostra e a frequência esperada, obtida através da hipótese considerada. Em seguida calculamos o qui-quadrado referente a essa amostra e comparamos com valores limites tabelados desse qui-quadrado, disponíveis nos livros de estatística. Para encontrar os valores limites entramos na tabela com o número de graus de liberdade referente ao caso estudado e com o nível de probabilidade que desejamos. Se o valor calculado for maior que o limite tabelado, consideramos que o qui-quadrado é significativo e portanto existe uma grande probabilidade de os desvios *não serem* devidos ao acaso. Portanto a hipótese lançada deve ser desconsiderada. Caso o valor calculado seja menor que o limite tabelado, consideramos o qui-quadrado não significativo, o que indica uma grande probabilidade de que os desvios sejam por acaso e a hipótese pode ser aceita.

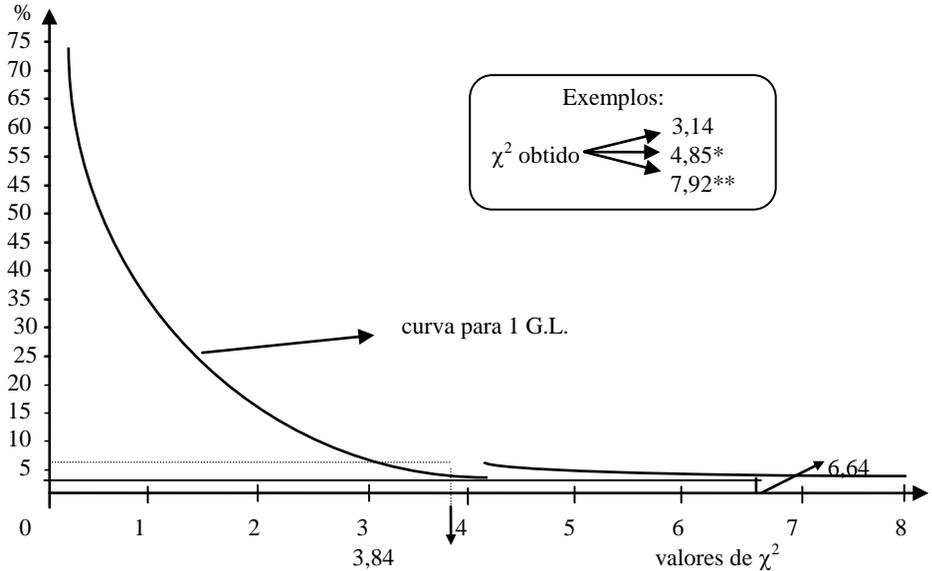
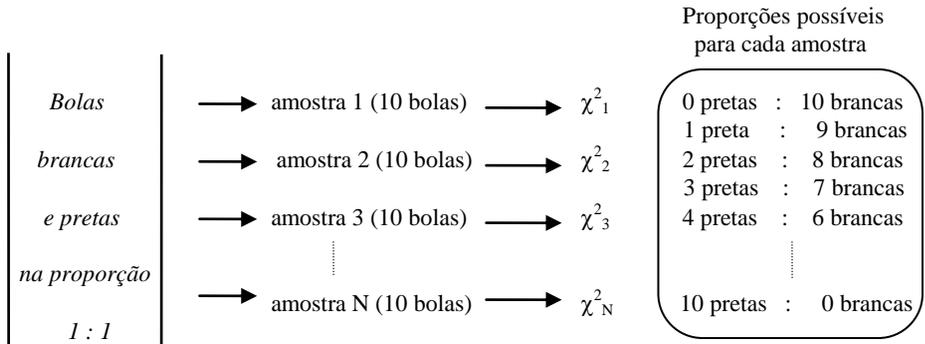
Para um melhor entendimento vamos considerar a maneira como a curva do qui-quadrado foi obtida pelos estatísticos. Vamos partir de uma urna onde temos bolas brancas e pretas na *proporção conhecida* de 1:1 (Figura na página seguinte). Infinitas amostras de 10 bolas são retiradas e para cada uma delas é calculado o qui-quadrado. Com infinitas amostras todas as proporções esperadas devem ocorrer, mesmo que a probabilidade seja muito baixa. Portanto todos os valores possíveis, e a probabilidade da sua ocorrência, são obtidos. Esses valores de qui-quadrado são colocados em uma curva de distribuição de frequência (ou em tabelas) e verifica-se por exemplo que o valor 3,84 ocorre com 5% de frequência e o valor 6,64 com 1% de frequência.

Na prática, quando temos uma população de proporção desconhecida, podemos lançar a hipótese de que a proporção é 1:1, tirar uma amostra, calcular o qui-quadrado e comparar com esses valores. Se o valor calculado for maior que 3,84 rejeitamos a hipótese pois a probabilidade dela estar correta é menor que 5%. Se o valor calculado for menor que 3,84 aceitamos a hipótese, pois a probabilidade dos desvios da hipótese serem por acaso é maior que 5%. Os valores com

5% e 1% de probabilidade são muito utilizados na prática. Quando se ultrapassa o valor de 5% coloca-se um asterisco (*) na frente do valor do qui-quadrado e quando se ultrapassa o valor de 1% dois asteriscos (**) são colocados. Para se aceitar ou rejeitar a hipótese testada usa-se normalmente o valor de 5%, embora outros valores possam ser utilizados, dependendo do tipo de interesse do pesquisador.

A curva da página seguinte é para 1 grau de liberdade (2 classes - preta e branca), mas para cada grau de liberdade existe uma curva característica e valores de qui-quadrado e probabilidades associadas diferentes. Juntando tudo construíram-se tabelas de valores de qui-quadrado como exemplificado adiante.

Obtenção da curva do qui-quadrado (χ^2)



A *hipótese genética* lançada é de que a característica cor das flores é governada por um loco com dois alelos e codominantes. A *hipótese estatística* é de que a proporção esperada em F₂ será 1 branca: 2 rosas: 1 vermelha. Aplicando o teste qui-quadrado temos:

Fenótipos	f _o	f _e	d	(d) ² /f _e
Brancas	50	55	-5	0,45
Rosas	121	110	11	1,10
Vermelhas	49	55	-6	0,65
<i>Totais</i>	220	220	0	$\chi^2 = 2,20$

Estatisticamente aceita-se a proporção 1:2:1 e geneticamente aceita-se que a característica é governada por um loco com codominância.

Teste de independência

Muitas vezes é necessário verificar se um grupo de observações varia independentemente ou não de outro. Por exemplo, as características, cor da semente e textura da semente, observadas por Mendel em ervilha, ocorrem conjuntamente em uma população. Será que essas duas características são independentes?

Tomemos uma população F₂ onde temos 149 amarela-lisa, 60 amarela-Rugosa, 43 verde-lisa e 16 verde-rugosa. Se as características forem independentes, os encontros amarela com lisa, amarela com rugosa, verde com lisa e verde com rugosa vão ocorrer, no mesmo indivíduo, simplesmente por acaso. Portanto esperamos:

$$f_e(\text{amarela-lisa}) = \frac{\text{amarelas}}{\text{total}} \cdot \frac{\text{lisas}}{\text{total}} \cdot \text{total} = \frac{209}{268} \cdot \frac{192}{268} \cdot 268 = 149,73$$

A partir desse dado as classes amarela-rugosa, verde-lisa e verde-rugosa podem ser determinadas, conforme a tabela de contingência a seguir. A *hipótese genética* é que as características segregam-se independentemente. A hipótese estatística é que a proporção é 149,73:59,27:42,27:16,73. Pelo cálculo do qui-quadrado conclui-se que as hipóteses são verdadeiras, ou seja os locos segregam-se independentemente. Como veremos adiante, a independência significa que os locos que controlam cada uma das características estão em cromossomos diferentes ou muito separados no mesmo cromossomo.

Tabela de contingência

Fenótipos	Amarelas	Verdes	Totais
Lisas	f _o = 149 f _e = 149,73	f _o =43 f _e =42,27	192
Rugosas	f _o = 60 f _e = 59,27	f _o =16 f _e =16,73	76
<i>Totais</i>	209	59	268

Fenótipos	f _o	f _e	d	(d - 1/2) ² /f _e
Amarelas-Lisas	149	149,73	-0,73	0,0003
Amarelas-Rugosas	60	59,27	0,73	0,0009
Verdes-Lisas	43	42,27	0,73	0,0012
Verdes-Rugosas	16	16,73	-0,73	0,0032
<i>Totais</i>	268	268	0	$\chi^2 = 0,0056$

Observações: a) Temos apenas 1 G.L. porque, quando determinamos a frequência esperada de uma classe, as demais ficam automaticamente determinadas; b) Neste caso não existe

uma proporção prévia; c) Este teste não indica que cada característica segrega 3:1; A independência pode ocorrer mesmo se as segregações monofatoriais não forem 3:1; d) Se confirmar-se que as segregações monofatoriais são 3:1, para se verificar a independência basta testar a hipótese 9:3:3:1 com 3 G.L., como o exemplo seguinte.

Exemplo: Uma planta sensível a uma doença e com caule ereto (pura) foi cruzada com outra resistente à doença e com caule rasteiro (pura). Em F₁ observou-se que 100% das plantas foram sensíveis com caule ereto. Em F₂ observou-se a seguinte segregação: 1010 plantas sensíveis-caule ereto; 210 plantas sensíveis-caule rasteiro; 205 plantas resistentes-caule ereto; 175 plantas resistentes-caule rasteiro.

a) Vamos testar 3:1 para as segregações monofatoriais, ou seja, vamos testar a hipótese de que cada uma das características (sensibilidade à doença e tipo de caule) é governada por um loco com dois alelos e com dominância.

Sensibilidade à doença

Fenótipo	f _o	f _e	(d - 1/2) ² /f _e
Sensível	1220	1200	0,32
Resistente	380	400	0,95
<i>Totais</i>	1600	1600	$\chi^2 = 1,27$

Tipo de caule

Fenótipo	f _o	f _e	(d - 1/2) ² /f _e
Ereto	1215	1200	0,17
Rasteiro	385	400	0,53
<i>Totais</i>	1600	1600	$\chi^2 = 0,70$

Conclusões: - A característica sensibilidade à doença é governada por um loco com dois alelos com dominância; A característica tipo de caule é governada por um loco com dois alelos com dominância.

b) Vamos fazer o teste de independência entre as duas características. Neste caso temos dois caminhos para testar a independência. O primeiro é através da tabela de contingência e o segundo é através da proporção 9:3:3:1 para F₂, pois se ambas as características segregam 3 : 1 e são independentes, em F₂ as duas conjuntamente darão a proporção 9:3:3:1.

Teste de independência pela tabela de contingência

Fenótipos	Ereto	Rasteiro	Totais
Sensível	f _o = 1010 f _e = 926,44	f _o =210 f _e = 293,56	1220
Resistente	f _o = 205 f _e = 288,56	f _o =175 f _e = 91,44	380
<i>Totais</i>	1215	385	1600

Fenótipos	f _o	f _e	d	(d - 1/2) ² /f _e
Sensível-Ereto	1010	926,44	83,56	7,4467
Sensível-Rasteiro	210	293,56	-83,56	23,5010
Resistente-Ereto	205	288,56	-83,56	23,9082
Resistente-Rasteiro	175	91,44	83,56	75,4480
<i>Totais</i>	1600	1600	0	$\chi^2 = 123,304^{**}$

Teste de independência através da proporção esperada 9:3:3:1

Fenótipos	f _o	f _e	d	d ² /f _e
Sensível-Ereto	1010	900	110	13,4444
Sensível-Rasteiro	210	300	-90	27,0000
Resistente-Ereto	205	300	-95	30,0833
Resistente-Rasteiro	175	100	75	56,2500
<i>Totais</i>	1600	1600	0	$\chi^2 = 126,7777^{**}$

Conclusão: As características não são independentes. Observe que ambos os caminhos permitem a mesma conclusão, embora os valores de qui-quadrado sejam diferentes.

Observações importantes

- Só podemos concluir sobre a independência, testando a proporção esperada 9:3:3:1 em F_2 , **se soubermos que as segregações monofatoriais foram 3:1 para as duas características**;
- Mesmo que uma ou ambas as características não tenham segregação monofatorial 3:1, elas podem ou não ser independentes.

Exemplo: Em uma população F_2 temos 371 plantas verde-altas, 124 plantas verde-anãs, 365 plantas verde claras-altas, e 120 plantas verde claras-anãs. Testando a hipótese de que as características cor e altura são governadas, cada uma, por um loco com dois alelos e dominância (segregações monofatoriais), temos:

Cor da planta (teste 3:1)

Fenótipo	f_o	f_e	$(d - 1/2)^2/f_e$
Verdes	495	735	78,0412
Verde claras	485	245	234,1235
<i>Totais</i>	980	980	312,1647**

Altura da planta (teste 3:1)

Fenótipo	f_o	f_e	$(d - 1/2)^2/f_e$
Alta	736	735	0,0003
Anã	244	245	0,0010
<i>Totais</i>	980	980	0,0013

Conclusão: Apenas a altura da planta é governada por um loco com dois alelos e dominância completa.

Neste caso só podemos fazer o teste de independência através da tabela de contingência. O valor do qui-quadrado neste caso será 0,0128, permitindo concluir que as características são independentes.

VIII. LIGAÇÃO E MAPEAMENTO

Para que dois locos segreguem independentemente, uma das condições é que estejam em cromossomos diferentes, ou então muito distantes no mesmo cromossomo. *Ligação* ou "*linkage*" é o fenômeno pelo qual dois ou mais genes estão localizados no mesmo cromossomo. Quanto mais próximos estiverem, maior será a tendência de permanecerem juntos durante a formação dos gametas.

A % de células em meiose que seguirão o caminho sem permuta e o caminho com permuta, conforme o segundo esquema abaixo, depende da distância entre os locos. Quanto mais próximos estiverem, maior será a dificuldade da ocorrência de permuta, ocorrendo inclusive o caso de ligação absoluta (100% das células em meiose não sofrem permuta). A distância também poderá ser tão grande que 100% das células em meiose sofrem permuta entre os locos. Neste caso a frequência dos gametas será igual àquela da segregação independente (primeiro esquema abaixo).

Representação dos genes ligados

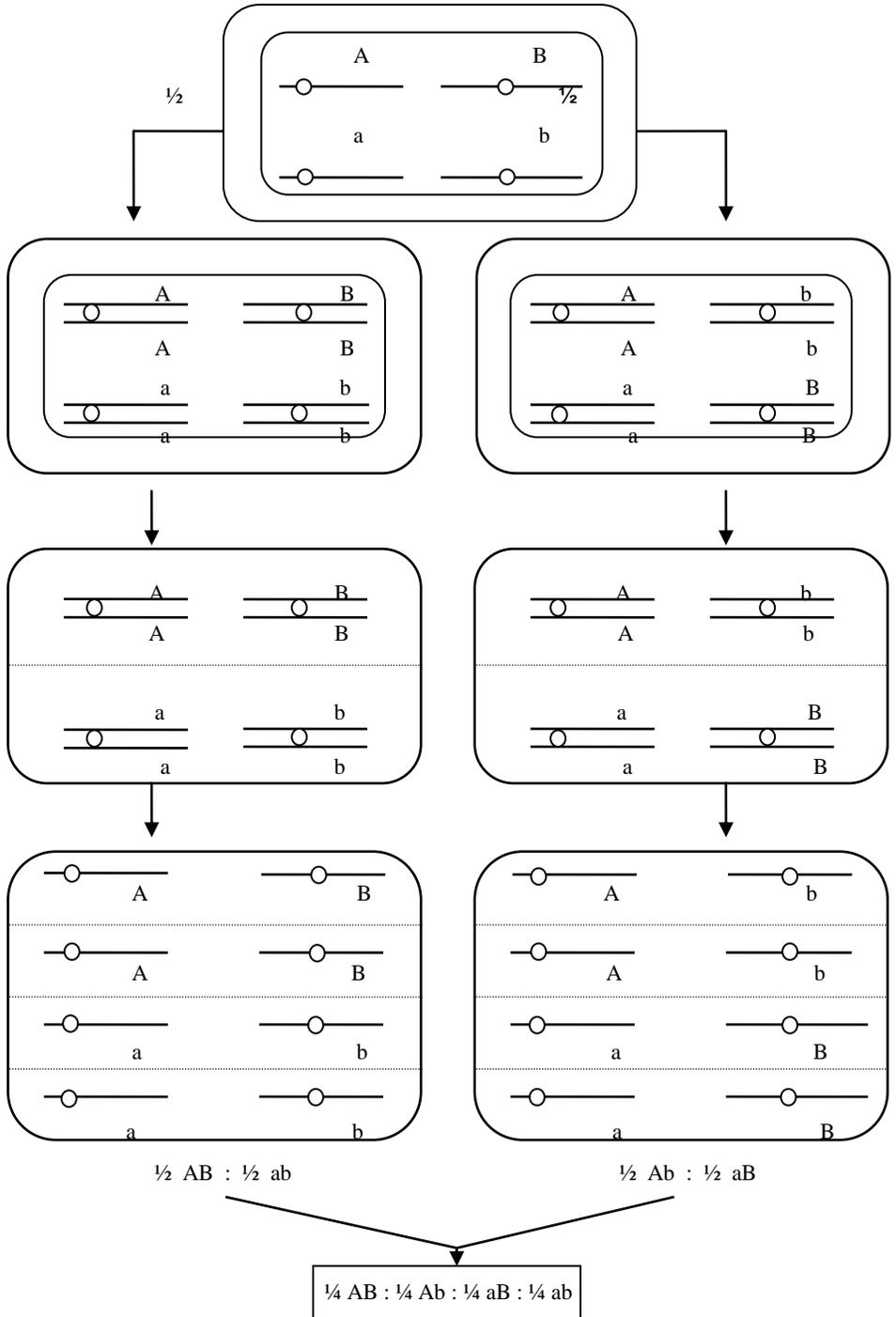
$\frac{AB}{AB}$ → duplo homocigoto dominante, correspondendo ao AABB da condição independente;

$\frac{ab}{ab}$ → duplo homocigoto recessivo, correspondendo ao aabb da condição independente;

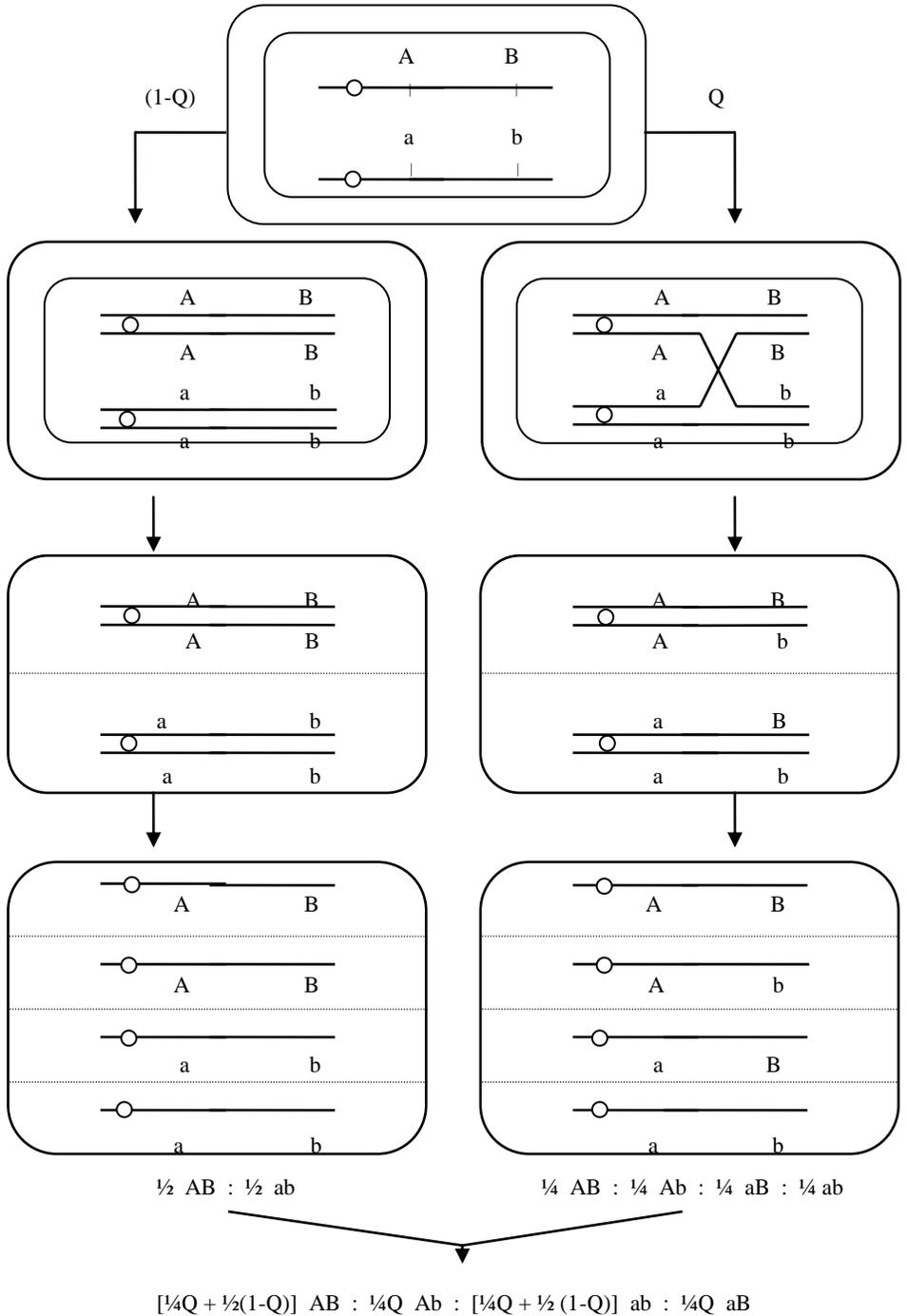
$\frac{AB}{ab}$ ou $\frac{Ab}{aB}$ → duplo heterocigoto, correspondendo ao AaBb da condição independente;

$\frac{AbC}{abC}$ ou $\frac{Abc}{abC}$ → heterocigoto para dois locos e homocigoto para outro, correspondendo ao

Esquema da meiose, seguindo-se dois locos independentes



Esquema da meiose, seguindo-se dois locos ligados



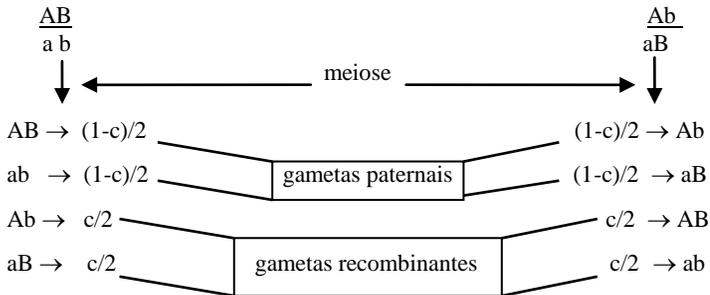
AabbCc da condição independente;

$\frac{ABC}{abc}, \frac{ABc}{abC}, \frac{AbC}{aBc}$ ou $\frac{Abc}{aBC}$ → triplos heterozigotos, correspondendo ao AaBbCc da condição independente.

Frequência de quiasmas (recombinação) e recombinantes

Quanto mais separados os locos, mais quiasmas serão formados e portanto aumenta a recombinação. Quando um quiasma se forma entre dois locos, somente metade dos gametas formados serão recombinantes. Por isso a % quiasmas (recombinação) é igual a 2 vezes a % de recombinantes), ou seja $Q = 2c$. O “centimorgan” (c) é dependente da distância entre os locos e é usado como medida dessa distância, para fazer o mapeamento genético dos locos nos cromossomos. Desta maneira *1 c equivale a 1% de recombinantes*. É necessário atentar para o fato de que % de recombinação é diferente de % de recombinantes. A primeira se refere às células em meiose que apresentam recombinação e a segunda ao número de gametas recombinantes após a meiose. Os gametas não recombinantes são chamados de paternos ou parentais, pois são idênticos àqueles que o indivíduo recebeu de seus pais. Conhecendo-se os gametas paternos, que sempre são os mais frequentes, e os recombinantes, os menos frequentes, determina-se o genótipo do indivíduo que produziu esses gametas.

De acordo com as considerações feitas é fácil notar que os recombinantes nunca excedem 50% ($c=0,5$) dos gametas resultantes, assim como no caso de ligação total (ausência de recombinação) $c=0$ e no caso de ligação parcial $0 < c < 0,5$, como generalizado abaixo para dois tipos de genótipos.



Exemplo: Um indivíduo Ab/aB produz gametas, sendo 8% AB e 8% ab. Então a distância entre os dois locos é 16 c. Por outro lado, se a distância entre os locos B(b) e C(c) for 12 c, então 12% dos gametas do indivíduo são recombinantes (6% Bc e 6% bC) e o genótipo do indivíduo é BC/bc.

Está evidente neste ponto que é necessário o conhecimento da % de gametas recombinantes para construir-mos o mapa genético. A maneira mais fácil de identificar gametas recombinantes é através do cruzamento teste de um dihíbrido (heterozigoto para dois locos) ou trihíbrido (heterozigoto para três locos). Estes indivíduos heterozigotos são conseguidos através do cruzamento entre dois indivíduos puros e contrastantes para os locos em consideração. Se as duas características são cor de flor (fenótipos vermelho e amarelo) e altura (fenótipos alto e baixo) por exemplo, uma planta de flores vermelhas e alta (pura) pode ser cruzada com outra de flores amarelas e baixa (pura), para se conseguir uma ou várias plantas heterozigotas para os dois locos em questão. O mesmo objetivo é atingido se for feito o cruzamento de uma planta de flores vermelhas e baixa (pura), com outra amarela e alta (pura). Através da frequência fenotípica dos descendentes do cruzamento teste do F₁ heterozigoto é possível identificar os gametas do mesmo, uma vez que os gametas do teste são todos iguais e recessivos para todos os locos (veja o exemplo abaixo).

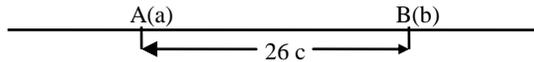
Vermelho - Alto x Amarelo - baixo
 $AaBb; \frac{AB}{a b} \text{ ou } \frac{Ab}{a B}$ $aabb \text{ ou } \frac{ab}{ab}$

↓

Vermelho - Alto	→	AB/ab	→	37%	} Paternais
Amarelo - Baixo	→	ab/ab	→	37%	
Vermelho - Baixo	→	Ab/ab	→	13%	} Recombinantes
Amarelo - Alto	→	aB/ab	→	13%	

Se os locos fossem independentes ($AaBb$), o resultado do cruzamento teste seria 25% de Vermelho-Alto, 25% de Amarelo-Baixo, 25% de Vermelho-Baixo e 25% de Amarelo-Alto.

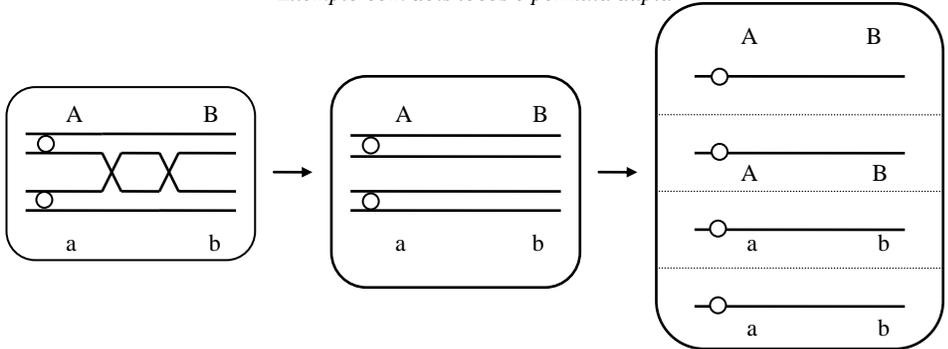
Neste caso os locos do indivíduo que está sendo testado estão ligados em estado de associação (genótipo AB/ab), e o mapa genético é o seguinte:



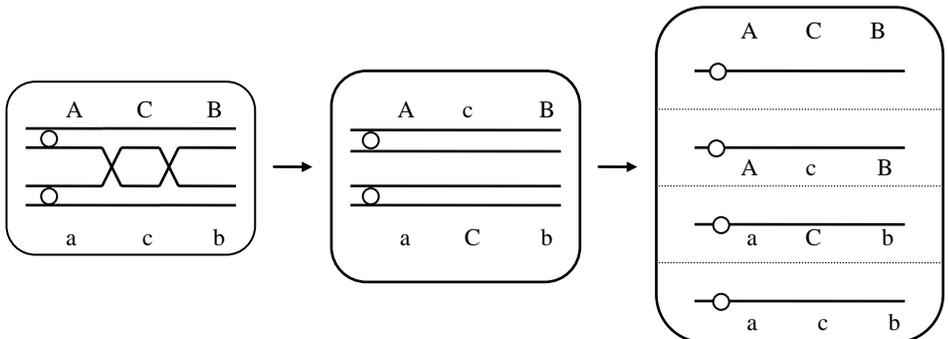
Teste dos três pontos

Quando consideramos apenas dois locos e ocorre um número par de quiasmas (permutas) entre eles, os gametas resultantes serão todos do tipo parental. No entanto ocorreu recombinação que, neste caso, não será considerada no mapeamento e contribuirá para uma subestimação da distância entre os locos. Para se identificar todos os recombinantes resultantes, inclusive os duplos, é utilizado um terceiro loco.

Exemplo com dois locos e permuta dupla



Exemplo com três locos, permitindo a identificação dos recombinantes duplos



produto dos recombinantes das regiões I e II ($0,1832 \times 0,1364 = 0,025$ ou 2,5% neste exemplo). No entanto isso não acontece porque a formação de um quiasma reduz a probabilidade da formação de um outro na região adjacente. Portanto a proporção de recombinantes duplos observados (0,0152 no exemplo) é menor devido a essa *interferência*. Temos então:

$$\text{Coincidência} = \frac{\text{duplos} - \text{observados}}{\text{duplos} - \text{esperados}} = \frac{(7 + 4)/726}{0,1832 \times 0,1364} = 0,6063$$

$$\text{Interferência} = 1 - \text{Coincidência} = 0,3937$$

Se a interferência for 1 implica em coincidência 0, ou seja, nenhuma permuta dupla ocorre e nenhum recombinante duplo será observado. a coincidência sendo 1 implica em interferência 0 e ocorrem todas as permutas duplas e recombinantes esperados.

VIII. GENÉTICA DO SEXO

A função do sexo é a reprodução, a segregação e recombinação dos genes. O número normal é 2, porém, em organismos inferiores pode haver mais (8 tipos em *Paramecium bursaria*). Quanto à localização podemos ter sexos separados, hermafroditismo, monoicnia, dioicnia (aspargo, tâmara, cânhamo, lúpulo, espinafre e pinheiro do paraná). O sexo também pode ser determinado pelo ambiente, como por exemplo em uma orquídea (*Catasetum fimbriatum*), onde as flores femininas aparecem quando as plantas são submetidas a alta iluminação solar e as flores masculinas aparecem em condições sombreadas, dificilmente ocorrendo ao mesmo tempo. Outro exemplo é a Pteridófita cauda-de-cavalo (*Equisetum*) que produz flores femininas em alta fertilidade e masculinas em baixa fertilidade.

Mecanismos genéticos de determinação do sexo em animais

1 - Sistema dos cromossomos sexuais

Um par de cromossomos citologicamente distintos (sem homologia completa ou sem um homólogo) é o responsável pela determinação do sexo. São os *heterossomos*, enquanto os demais são denominados de autossomos. Temos dois tipos:

a) *Machos heterogaméticos e fêmeas homogaméticas* - Sistema XY (homem e alguns animais superiores) e sistema XO (*Hemípteros* e *Orthopteros*);

b) *Fêmeas heterogaméticas e machos homogaméticos* - Sistema ZW (aves, alguns peixes e alguns insetos).

Sistema	Macho	Fêmea
XY	XY	XX
XO	XO	XX
ZW	ZZ	ZW

Normalmente os genes determinantes da masculinidade estão nos cromossomos Y e Z e os determinantes da feminilidade estão no X e W. No entanto, em alguns casos, como na *Drosophila*, ocorre um fenômeno chamado Balanço gênico, que é o fenômeno pelo qual os fatores de masculinidade resi-

dem em todos os autossomos e são ponderados contra os fatores de feminilidade do(s) cromossomo(s) X. O cromossomo Y é essencial apenas para fertilidade do macho. Cada grupo homólogo de autossomos contribui com uma unidade para masculinidade e cada cromossomo X com 1,5 unidades para feminilidade. Isso foi descoberto devido à facilidade em se conseguir indivíduos com números variáveis de cromossomos X e Y.

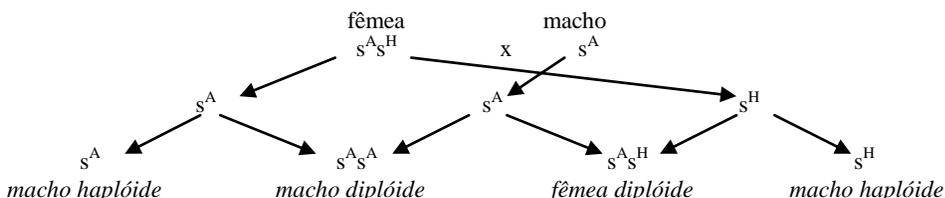
Indivíduo	Relação masculinidade/feminilidade	Sexo
AAXY	2:1,5	macho
AAXX	2:3	fêmea
AAAXX	3:3	intersexo (neutro)

Outros tipos de variações destes sistemas podem ocorrer devido a efeitos de genes autossômicos. Um exemplo é o gene transformador (*tra*) em *Drosophila*, que transforma a fêmea diplóide em um macho estéril quando em homozigose recessiva. O genótipo *XY-tratra* é um macho normal enquanto que o genótipo *XX-tratra* é morfologicamente um macho, exceto pelos testículos atrofiados.

2 - Haplodiploidismo

Os machos são haplóides (n), desenvolvendo-se partenogeneticamente de óvulos não fecundados e todos os indivíduos diplóides são fêmeas. Como exemplo temos as formigas, abelhas e vespas, onde os machos são haplóides e produzem esperma por mitose. As operárias são diplóides que não tiveram uma alimentação especial e a rainha é diplóide alimentada com geleia real. Observa-se aqui uma ação conjunta do haplodiploidismo e do ambiente, com a alimentação controlando a esterilidade de um indivíduo que potencialmente seria uma fêmea.

Na vespa *Habrobacon juglandis* (*Bracon hebetor*), além do haplodiploidismo um loco também participa na determinação do sexo, através do fenômeno denominado de *fatores complementares de sexo*. Todos os indivíduos haplóides são machos, mas entre os diplóides podemos também encontrar machos quando o indivíduo for homozigoto para esse loco, conforme podemos verificar no cruzamento esquematizado abaixo. Para ser fêmea o indivíduo precisa ser diplóide e heterozigoto para esse loco. Além disso esse loco apresenta nove alelos diferentes ($s^A, s^B, s^C, s^D, s^E, s^F, s^G, s^H$ e s^I).



3 - Efeitos de um único loco

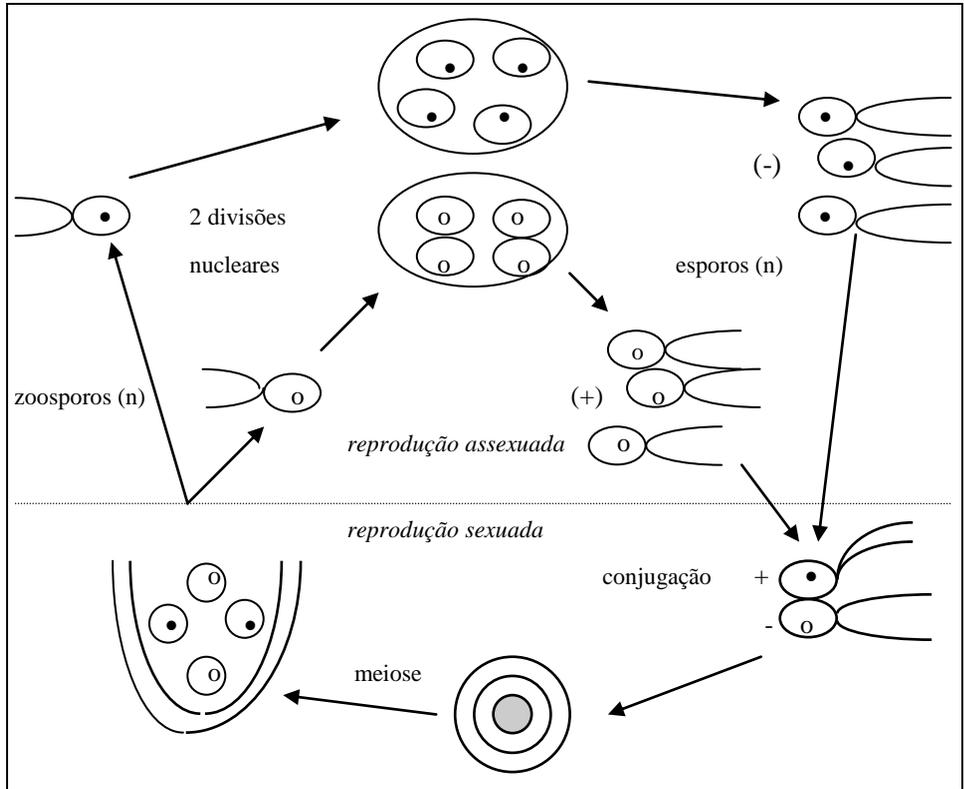
Em alguns exemplos citados acima o efeito de um único loco ocorre juntamente com outro sistema de determinação do sexo. A ocorrência mais característica desse fenômeno é em microrganismos haplóides, onde temos os chamados "tipos sexuais". Os indivíduos com o mesmo alelo no loco determinante do "tipo sexual" não se unem para formar zigotos ou realizar conjugação. Um exemplo típico é *Chlamydomonas reinardi*, como mostrado no esquema abaixo. Este mecanismo permite a existência de mais de dois tipos sexuais.

Fenômenos sexuais nas plantas

Na maioria das plantas ocorre hermafroditismo (flores com os dois sexos), monoiccia (dois sexos no mesmo indivíduo em flores unissexuadas) e dioiccia (indivíduos unissexuados). Em alguns casos temos a presença de cromossomos sexuais (sistema XY) como em *Cannabis sativa*, *Humulus lupulus*, *Melandrium album* e *Asparagus officinales*. Algumas variações também são observadas como no mamoeiro onde são observadas plantas unissexuadas e andróginas, havendo flores unissexuadas e hermafroditas. Em outros casos o controle sexual é feito através de genes autossômicos. Um exemplo típico desse sistema é o controle do sexo em pepino, onde o genótipo *ffM_* determina plantas monóicas, o genótipo *F_M_* determina plantas ginóicas (apenas flores femininas) o genótipo *ffmm* determina plantas andromonóicas (flores masculinas e hermafroditas). Este sistema permite a produção de sementes híbridas, desde que a mãe do híbrido seja ginóica. Para multiplicar essa linha, há necessidade do tratamento com giberilina, para provocar a produção temporária de flores masculinas, permitindo assim a autofecundação da planta fêmea.

Além dos sistemas citados acima, diversos mecanismos atuam nas plantas no sentido de

Ciclo de vida de Chlamydomonas reinardi



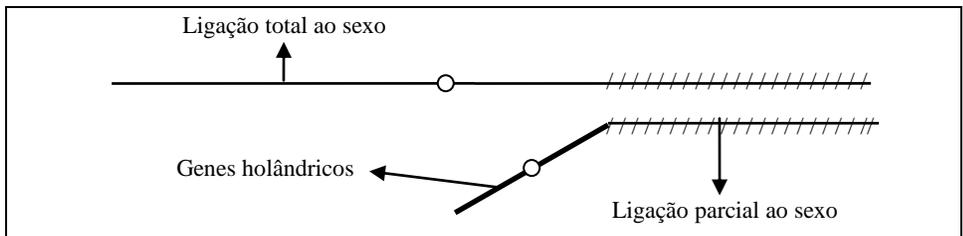
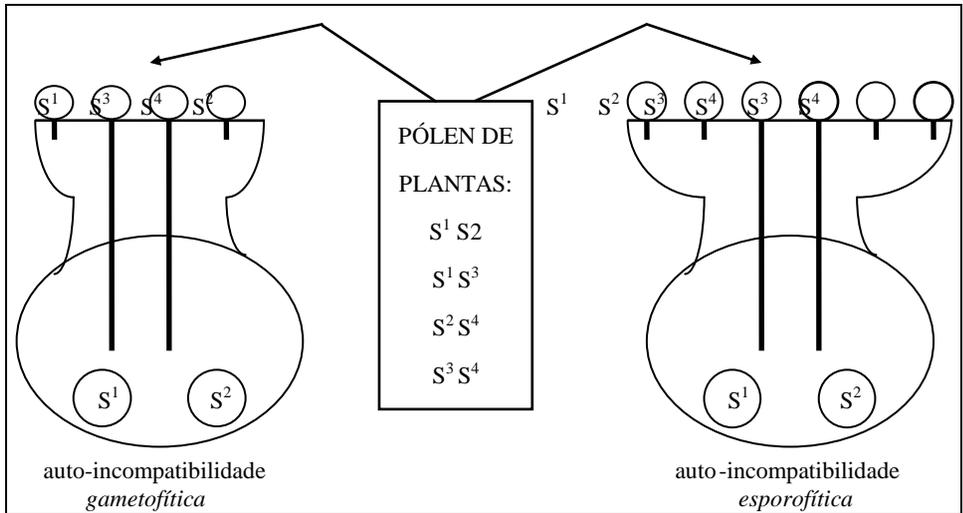
implementar ou não o cruzamento ou a autofecundação. Dessa maneira tem-se a cleistogamia (abertura da flor após a maturação do pólen); protandria (maturação do androceu antes que o gineceu); protoginia (maturação do gineceu antes que o androceu) e a auto-incompatibilidade.

A auto-incompatibilidade é governada por uma série de alelos múltiplos (S^1, S^2, S^3, \dots) e ocorre de duas formas. Na *autoincompatibilidade gametofítica* o grão de pólen não forma tubo polínico (não germina) se o genótipo materno (tecido do estigma) possuir um alelo do mesmo tipo que o dele. Na *auto-incompatibilidade esporofítica* o grão de pólen não forma tubo polínico (não germina) no estigma de uma planta que tenha, em seu genótipo, algum alelo em comum com a planta mãe do grão de pólen (veja os esquemas abaixo).

Herança ligada ao sexo

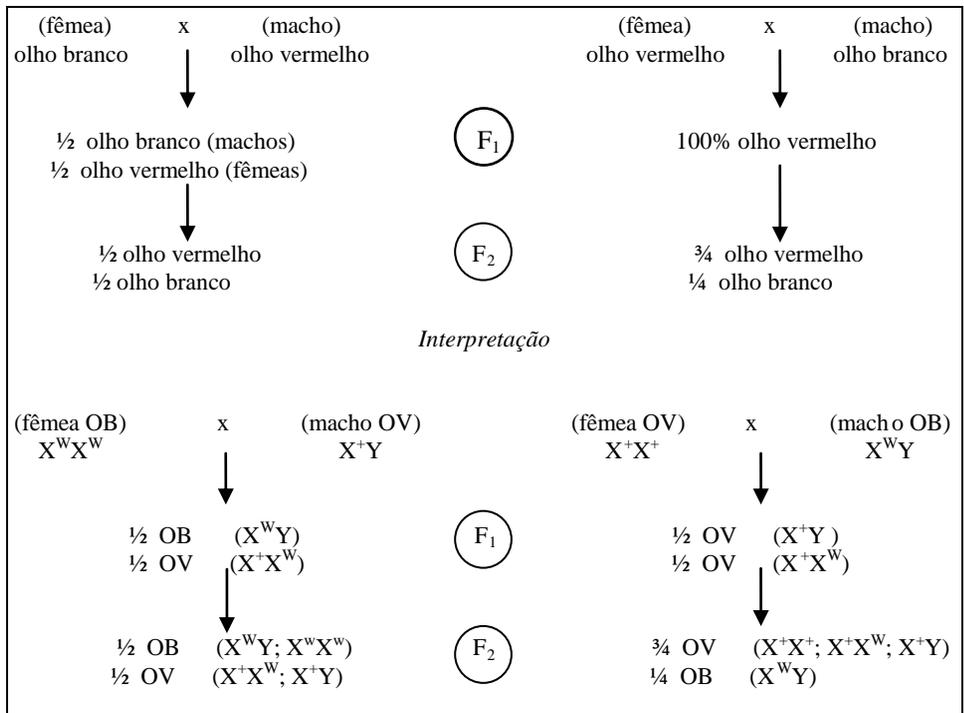
Quando uma característica é controlada por genes cujos locos estão localizados nos cromossomos sexuais dizemos que a herança da mesma é ligada ao sexo. Isso evidentemente só pode ocorrer nos organismos cujo controle sexual se faz pelo sistema de cromossomos sexuais.

Se o loco está na parte não homóloga do cromossomo X ou Z, temos ligação total ao sexo; se está na parte homóloga do cromossomo Y ou W temos os chamados genes holândricos; e se está na parte homóloga (XY ou ZW) temos ligação parcial ao sexo. Um gene holândrico controla uma característica que vai aparecer apenas nos machos (sistema XY) ou nas fêmeas (sistema ZW). Na ligação parcial a segregação será idêntica aos locos autossômicos pois ocorrerá pareamento, recombinação e segregação normais. Na ligação total, não havendo homologia, não haverá pareamento nem recombinação e a segregação será diferente da normal.



Para se saber se uma característica é totalmente ligada ao sexo, são utilizados os cruzamentos recíprocos, ou seja, dois cruzamentos idênticos exceto na inversão dos fenótipos do macho e da fêmea. Se no primeiro cruzamento a fêmea possui um fenótipo *a* e o macho um fenótipo *b*, no cruzamento recíproco a fêmea deve possuir fenótipo *b* e o macho fenótipo *a*. Se a característica for governada por genes autossômicos os resultados serão idênticos nos dois cruzamentos. Naquelas ligadas ao sexo os resultados serão diferentes como no exemplo da página seguinte, onde consideramos a característica cor do olho em *Drosophila*. Note que foram feitos dois cruzamentos; o primeiro utilizando uma fêmea com fenótipo olho branco e macho com fenótipo olho vermelho e o segundo utilizando uma fêmea com fenótipo olho vermelho e um macho com fenótipo olho branco. Note também que os indivíduos envolvidos nos cruzamentos recíprocos precisam ser puros.

É importante notar que o resultado dos cruzamentos recíprocos foram diferentes já em F_1 , mas algumas vezes essa diferença só aparece em F_2 .



Caracteres influenciados pelo sexo

São aquelas governadas por locos autossômicos cuja expressão é afetada pelas condições fisiológicas do sexo onde se encontra. O exemplo mais comum é a reversão de dominância quando se muda o sexo. Isso pode ser verificado nos heterozigotos como na característica cor da pelagem em bovinos da raça Ayrshire, mostrada abaixo. Muitos outros exemplos podem ser encontrados na literatura, onde o fenótipo do heterozigoto depende do sexo do indivíduo.

Genótipo	Fenótipos	
	Macho	Fêmea
$M^1 M^1$	mogno-branco	mogno-branco
$M^1 M^2$	mogno-branco	vermelho-branco
$M^2 M^2$	vermelho-branco	vermelho-branco

Características com efeito limitado pelo sexo

São aquelas cujo fenótipo (uma ou todas as alternativas) só se manifesta em um dos sexos. Como exemplo temos a produção de leite e a produção de ovos que só se manifestam nas fêmeas, embora os machos possam possuir os mesmos genes das fêmeas. Ocorre uma sistema de regulação da expressão do(s) gene(s), coordenado pelos hormônios sexuais. Um exemplo típico é o tipo de penas em galináceos, onde o fenótipo penas de galo só se manifesta no macho.

Genótipo	Fenótipos	
	Macho	Fêmea
HH	penas de galinha	penas de galinha
Hh	penas de galinha	penas de galinha
hh	penas de galo	penas de galinha

IX. VARIAÇÃO NO NÚMERO E ESTRUTURA DOS CROMOSSOMOS

Na grande maioria dos seres vivos o número característico de cromossomos é $2n$, ou seja, dois grupos homólogos, sendo um doado pela mãe e outro pelo pai. No entanto variações tanto no número quanto na estrutura dos cromossomos podem ocorrer dentro de uma espécie. Essas variações podem aparecer em partes do organismo ou no organismo todo.

Euploidia

O número n de cromossomos da espécie será aqui denominado de o número haplóide (número de pares de cromossomos). Esse número n pode ser composto de outros grupos menores de cromossomos (denominados de x) que representam o chamado número ou genoma básico de cromossomos da espécie. Esse número x só é diferente do número n quando a espécie evoluiu de espécies ancestrais através de cruzamentos interespecíficos.

Colocado isto podemos definir *euploidia*, como o fenômeno através do qual organismos apresentam um número somático de cromossomos como múltiplo exato do número básico (x) da espécie. Portanto ocorre variação no número de conjuntos inteiros de cromossomos.

Desta maneira podemos ter organismos com apenas um conjunto (x) de cromossomos, que são denominados de *monoplóides*. Como colocado acima muitas vezes $x=n$ e os monoplóides são idênticos aos haplóides.

Também podemos ter organismos com mais de dois grupos básicos de cromossomos, chamados de *poliplóides*. Quando os grupos x são idênticos, ou seja há repetição de um mesmo genoma básico, temos os *autopoliplóides* e quando os grupos x são diferentes temos os *alopoliplóides*.

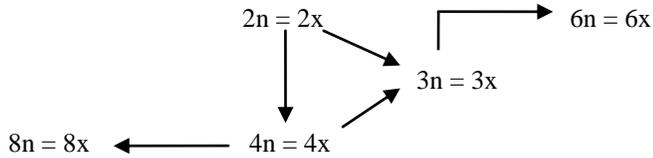
A bananeira a macieira e a pereira são exemplos de autotriplóides onde temos $3n = 3x$; a alfafa é um exemplo de autotetraplóide onde temos $4n = 4x$. Do mesmo modo podemos ter indivíduos autopentaplóides ($5n = 5x$), autohexaplóides ($6n = 6x$) etc.

O trigo cultivado (como será visto adiante) é o exemplo mais típico de alopoliplóide (alohexaplóide no caso), onde temos um número de cromossomos $2n = 2x + 2x' + 2x''$.

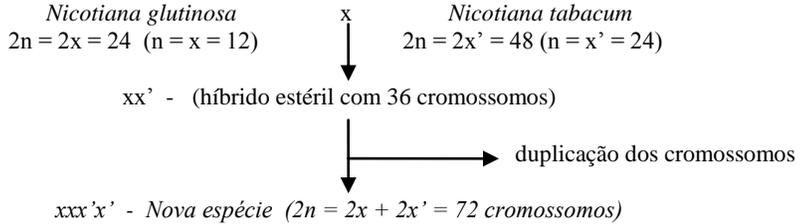
O surgimento dos autopoliplóides tem por base uma aberração meiótica chamada de não disjunção, que nada mais é do que a não separação dos homólogos ou das cromátides na meiose, no momento da formação dos gametas. Ocorrendo não disjunção em um organismo $2n$ haverá formação de gametas $2n$ ao invés de n . Este gameta poderá se juntar com outro n e formar um autotriplóide ($3n$). A não disjunção ocorre naturalmente com baixa frequência devido à problemas na formação do fuso ou na migração dos homólogos ou das cromátides para os pólos da célula em divisão, no momento da meiose. Sabe-se por exemplo que a colchicina e outros produtos químicos podem provocar esse tipo de erro podendo inclusive ser usados experimentalmente para provocar o aparecimento de autopoliplóides.

O surgimento dos alopoliplóides tem por base a ocorrência de hibridação interespecífica de progenitores com diferenças marcantes em seus genomas e posterior duplicação dos cromossomos. Essa duplicação vai depender da ocorrência de não disjunção mitótica em algum meristema do híbrido inicial que é estéril pelo fato de ser haplóide (n). Algumas espécies

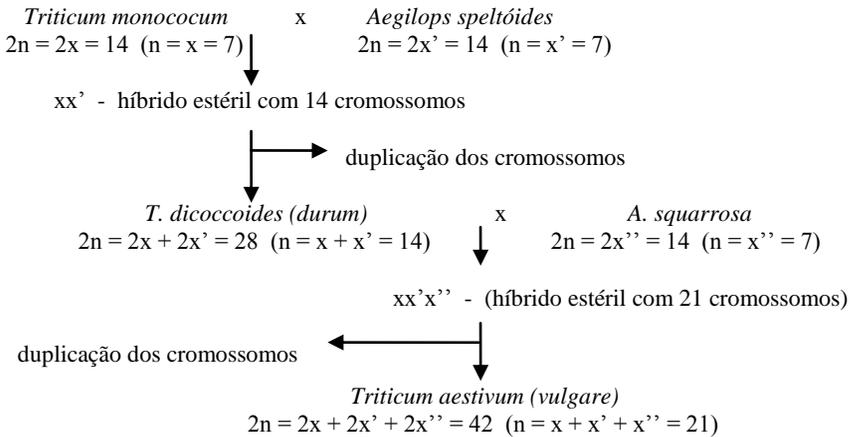
Surgimento dos autopoliplóides



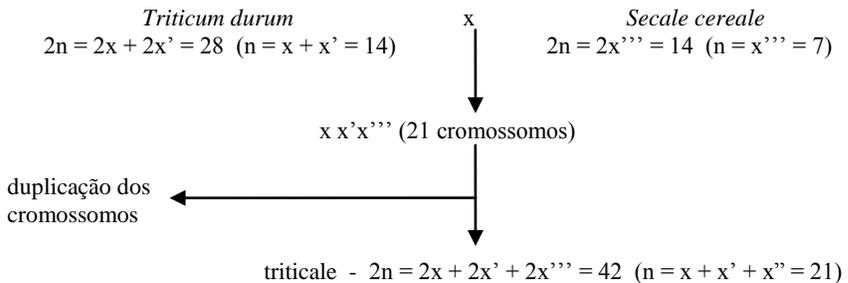
Exemplo 01 - Surgimento de um alotetraplóide em fumo



Exemplo 02 - Evolução do trigo cultivado



Exemplo 03 - Obtenção do triticale



conhecidas e utilizadas comercialmente, como o trigo e a cevada surgiram naturalmente através desse processo. Artificialmente também os melhoristas podem lançar mão do mesmo processo, utilizando mutagênicos como o colchicina, que paralisa as fibras do fuso mitótico, duplicando o número de cromossomos de híbridos estéreis.

Comportamento meiótico dos poliplóides

Os monoplóides, quando são viáveis, ocorre através de partenogênese ou pseudogamia. Nos diplóides o pareamento ocorre normalmente com a formação de n bivalentes (pareamento de dois homólogos) na meiose. Nos triplóides podemos ter a formação de trivalentes ou então bivalentes mais univalentes (III, II + I). Nos tetraplóides ocorrem tetravalentes, bivalentes ou trivalentes mais univalentes (IIII, II + II, III + I). Para cada grupo homólogo essas configurações podem variar na mesma célula. No caso da formação de tetravalentes, conforme os quiasmas que ocorrerem, poderá haver formação de cadeia ou anéis na anáfase I).

Como resultado da meiose, na maioria das vezes ocorre a formação de gametas com número de cromossomos desbalanceados, e geralmente inviáveis. Para que ocorram gametas viáveis em um poliplóide deve haver uma segregação mais uniforme dos diferentes grupos homólogos, de maneira que o gameta resultante seja n , $2n$, $3n$, etc. Os gametas $n+3$, $n+4$ e $2n+5$, por exemplo, dificilmente serão viáveis, embora devamos considerar que a viabilidade ou não dos gametas também depende muito da espécie.

Efeito fenotípico da poliploidia

Se imaginarmos o aumento do número de cromossomos, de imediato imaginamos o aumento no volume nuclear e conseqüentemente do volume celular. Isso provoca o efeito chamado de *gigantismo*, geralmente observado nos poliplóides. No entanto isso nem sempre ocorre pelo fato do aumento no tamanho celular ser compensado por uma redução no número de células dos órgãos. Quando se descobriu a colchicina por exemplo, imaginou-se a obtenção de frutos, folhas e grãos enormes, o que não ocorreu devido a esse fator limitante.

Outro efeito é a redução na fertilidade, devido à formação de gametas inviáveis, como visto acima. Esse efeito limita muito a utilização comercial de autopoliplóides quando o produto comercial da espécie é o fruto ou a semente. Quando o produto comercial é alguma parte vegetativa e a espécie permite propagação vegetativa, esse fator deixa de ser limitante e o possível efeito do gigantismo pode ser explorado. É importante salientar neste ponto que os alopólíplóides normalmente não apresentam esse problema, pois embora possuam vários conjuntos x de cromossomos o pareamento ocorre normalmente pois eles são $2n$ (x é diferente de n nesses casos).

A presença de mais de duas cópias do mesmo cromossomo nos autopoliplóides implica na presença de um maior número de genes do mesmo tipo. Isso poderá alterar a quantidade de alguns constituintes químicos do indivíduo, o que poderá ser benéfico ou não. A maturação tardia pode ser um efeito ligado à esse tipo de alteração.

Como exemplos da utilização prática da autopoliploidia temos a melancia sem semente, ornamentais com folhas e flores maiores e com maior longevidade e a obtenção de clones de bananeira.

Aneuploidia

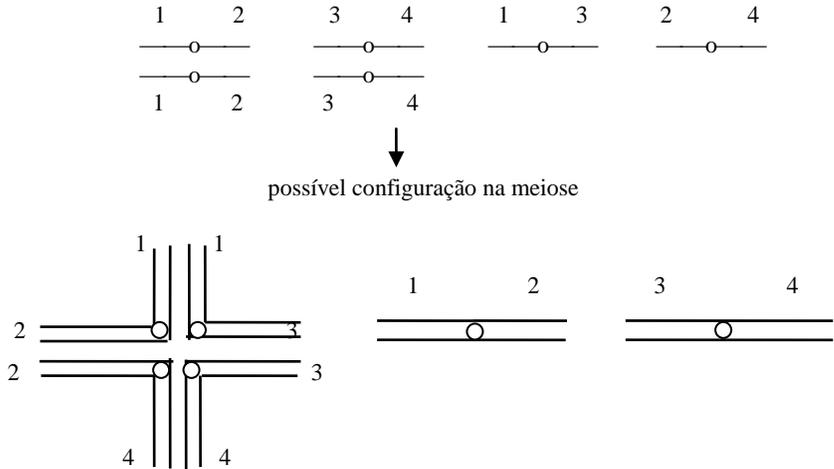
Este é o fenômeno através do qual organismos apresentam um número somático de cromossomos diferente de $2n$ porém não múltiplo exato do número básico (x) da espécie. Desta maneira temos os seguintes tipos de aneuplóides:

- *Monossômico* - indivíduos com um cromossomo a menos que o número diplóide normal ($2n-1$), ou seja, falta um homólogo em um dos pares, formando gametas n e $n-1$;
- *Nulissômicos* - indivíduos com dois cromossomos a menos que o número diplóide normal ($2n-2$), ou seja, falta um par de cromossomos homólogos, formando gametas $n-1$;

- *Trissômicos* - indivíduos com um cromossomo a mais que o número diplóide normal ($2n + 1$), ou seja, possui três homólogos para um determinado cromossomo, formando gametas n e $n+1$;

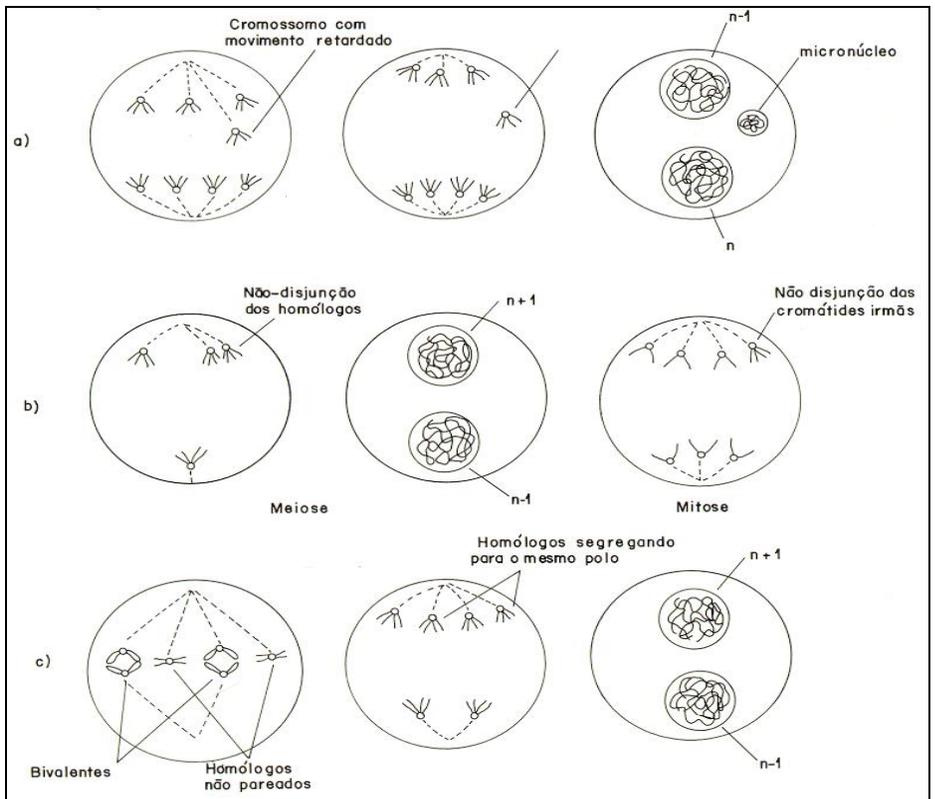
- *Trissômico duplo* - indivíduos com dois cromossomos diferentes em triplicata ($2n+1+1$), ou seja, possui três homólogos para cada um de dois cromossomos diferentes, podendo formar gametas n , $n+1$ e $n+2$;

- *Trissômico translocado* - presença de três homólogos para um determinado cromossomo, porém com braços trocados. Verifique no esquema que o braço 1 e 2 aparecem três vezes.



- *Tetrassômico* - indivíduos com dois cromossomo a mais que o número diplóide normal ($2n + 2$), ou seja, possui quatro homólogos para um determinado cromossomo, formando gametas n , $n+1$ e $n+2$.

Alterações meióticas que levam à formação de aneuplóides



Segregação em trissômicos

Considerando o loco A(a) como exemplo, teremos as condições genóticas AAA (triplex); AAa (duplex); Aaa (simplex); e aaa (nuliplex). Fazendo-se a meiose desses genótipos, considerando um pareamento normal e que o loco esteja próximo do centrômero, ou seja, não havendo quiasmas entre eles, teremos a seguinte proporção entre os gametas formados:

genótipo	proporção entre os gametas
triplex (AAA)	1 AA : 1 A
duplex (AAa)	2 A : 2 Aa : 1 AA : 1 a
simplex (Aaa)	2 Aa : 2 a : 1 aa : 1 A
nuliplex (aaa)	1 aa : 1 a

Realizando-se um cruzamento entre um indivíduo AAa (flor vermelha) e outro Aaa (flor vermelha) teremos o seguinte:

	2 A	2 Aa	1 AA	1 a
1 A	2 AA	2 AAa	1 AAA	1 Aa
2 Aa	4 AAa	4 AAaa	2 AAAa	2 Aaa
1 aa	2 Aaa	2 Aaaa	1 AAaa	1 aaa
2 a	4 Aa	4 Aaa	2 AAa	2 aa

Em algumas espécies os tetraplóides resultantes são inviáveis e a segregação fenotípica seria 11 flores vermelhas (A_ ou A__) : 1 flores brancas (aaa ou aa). Em outras espécies os tetraplóides são viáveis e a segregação fenotípica seria 08 flores vermelhas : 1 flores brancas.

Em triplóides isso também pode ocorrer, mas os gametas só serão viáveis se a segregação de cada um dos trivalentes ocorrer da mesma maneira. A probabilidade disso ocorrer é baixa e, na maioria das vezes os gametas ficam desbalanceados e inviáveis, acarretando a macho esterilidade do indivíduo.

Segregação em tetrassômicos

De maneira parecida com os trissômicos temos os genótipos AAAA (quadruplex), AAAa (triplex), AAaa (duplex), Aaaa (simplex), e aaaa (nuliplex). Considerando um pareamento normal, ausência de permuta entre o loco e o centrômero (loco próximo do centrômero) e segregação dois a dois dos cromossomos, teremos a seguinte proporção de gametas nos genótipos considerados:

genótipo	gametas
quadruplex (AAAA)	AA
triplex (AAAa)	1 AA : 1 Aa
duplex (AAaa)	1 AA : 1 aa : 4 Aa

genótipo	gametas
simplex (Aaaa)	1 Aa : 1 aa
nuliplex (aaaa)	aa

Realizando-se a autofecundação de um indivíduo AAaa (flores vermelhas) teremos uma segregação fenotípica de 35 flores vermelhas (A__) : 1 flores brancas (aaaa).

	1 AA	4 Aa	1 aa
1 AA	1 AAAA	4 AAAa	1 AAaa
4 Aa	4 AAAa	16 AAaa	4 Aaaa
1 aa	1 AAaa	4 Aaaa	1 aaaa

Utilização de trissômicos para localização de locos em cromossomos

Para se saber em qual cromossomo está localizado determinado loco, os aneuplóides podem ser utilizados, embora atualmente isso seja feito mais rapidamente, na maioria dos casos através de técnicas de genética molecular.

Vamos ver aqui um exemplo da utilização de trissômicos para verificar em que cromossomo está localizado o loco que controla a cor do aleurona em milho. O aleurona é uma fina camada unicelular que cobre endosperma da semente, logo abaixo do pericarpo. No milho selvagem o aleurona é normalmente colorido, mas surgiu um mutante recessivo de aleurona incolor.

Como o milho possui $n=10$ cromossomos, temos 10 trissômicos diferentes possíveis que são identificados através de observações citológicas. Os citogeneticistas possuem em estoque os trissômicos para cada um desses 10 cromossomos do milho. Há necessidade que todos esses trissômicos sejam puros de aleurona colorido, uma vez que o mutante é recessivo. Caso estas condições não sejam satisfeitas, através de cruzamentos poderá se chegar nas mesmas, ou seja é necessário se fazer um “arranjo inicial”.

Os passos seguintes são a obtenção dos heterozigotos, através do cruzamento de cada trissômico com o diplóide mutante e o cruzamento teste ou obtenção de F_2 , para comparação das segregações.

Quando a trissomia é de um cromossomo que não contém o loco em consideração a segregação será sempre 3 coloridos ($R_$) : 1 incolor (rr) em F_2 e sempre 1 colorido ($R_$) : 1 incolor (rr) no cruzamento teste. Quando a trissomia é do cromossomo que contém o loco em consideração, as segregações serão diferentes. Considerando apenas a geração F_2 poderemos ter 6,2 colorido : 1 incolor se todos os grãos de pólen e óvulos forem viáveis. Se o pólen trissômico não for viável, a segregação será 5,6 colorido : 1 incolor. Se tanto o pólen como o

óvulo trissômicos forem inviáveis, a segregação será 4,5 colorido : 1 incolor. Se os tetrassômicos resultantes forem inviáveis a segregação será 5,9 colorido : 1 incolor. De qualquer maneira sempre será difere-te de 3 : 1 em F₂ e de 1 : 1 no cruzamento teste. A interpretação genotípica está no quadro abaixo. Portanto concluímos que o loco está no cromossomo 10 conforme o resultado mostrado no quadro abaixo, onde é feita também a interpretação genotípica dos cruzamentos.

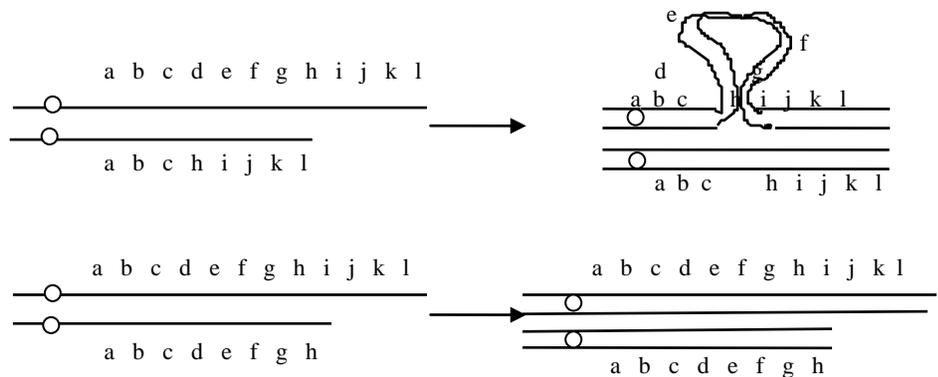
Trissômico	cruzamento	F ₁	F ₂	Cruzamento teste
01	RR x rr	Rr	3 col. : 1 inc.	1 col. : 1 inc.
02	RR x rr	Rr	3 col. : 1 inc.	1 col. : 1 inc.
03	RR x rr	Rr	3 col. : 1 inc.	1 col. : 1 inc.
04	RR x rr	Rr	3 col. : 1 inc.	1 col. : 1 inc.
05	RR x rr	Rr	3 col. : 1 inc.	1 col. : 1 inc.
06	RR x rr	Rr	3 col. : 1 inc.	1 col. : 1 inc.
07	RR x rr	Rr	3 col. : 1 inc.	1 col. : 1 inc.
08	RR x rr	Rr	3 col. : 1 inc.	1 col. : 1 inc.
09	RR x rr	Rr	3 col. : 1 inc.	1 col. : 1 inc.
10	RRR x rr	½ Rr : ½ Rrr	6,2 col. : 1 inc.	5 col. : 1 inc.

Aberrações estruturais

Quebras cromossômicas podem ocorrer e ocasionar perda do pedaço sem o centrômero, união dos mesmos finais quebrados reconstituindo o cromossomo e união de diferentes partes quebradas.

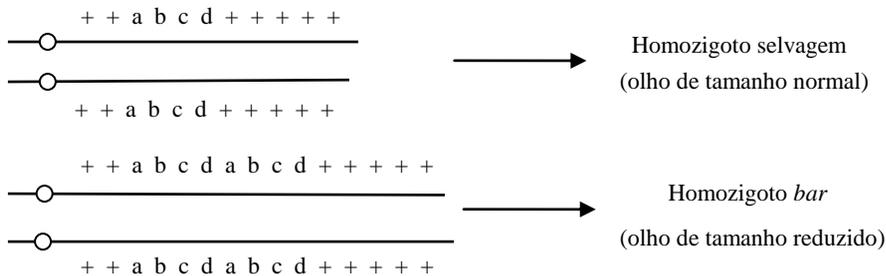
As deficiências (perdas) podem ser de partes consideráveis do cromossomo ou até de um único gene, como no caso da característica asa chanfrada (“notch”) em *Drosophila*. Foi entendido inicialmente que um loco ligado ao cromossomo X governava a característica da seguinte maneira: X^NXⁿ apresentava o fenótipo asa chanfrada (“notch”); XⁿXⁿ e XⁿY eram normais; X^NX^N e X^NY eram letais. Posteriormente, através de observações citológicas, verificou-se que o “gene N” era na verdade uma deficiência no cromossomo X, agindo como se fosse um alelo dominante.

Deficiências heterozigotas, ou seja aquelas onde apenas um dos homólogos possui a deficiência, podem ser detectadas citologicamente na prófase meiótica, pois ocorre a formação de alças ou extremidades livres no momento do pareamento

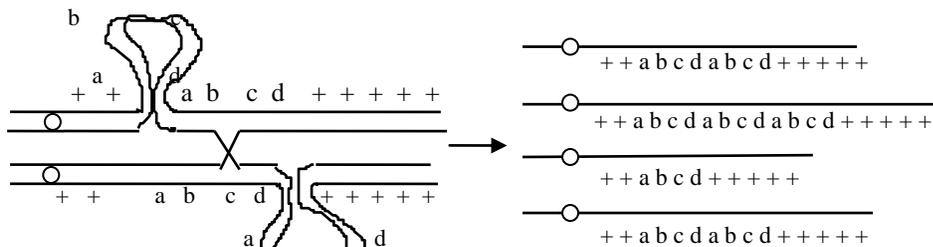


As duplicações implicam na presença de mais de duas cópias do mesmo loco e portanto não são tão prejudiciais quanto as perdas, embora possam influir no fenótipo de algumas

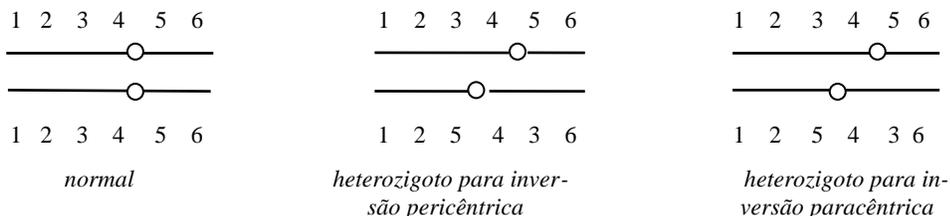
características. Um exemplo bem didático é a característica tamanho do olho *Drosophila* (olho *bar*), que é governada por uma região duplicada no cromossomo X.



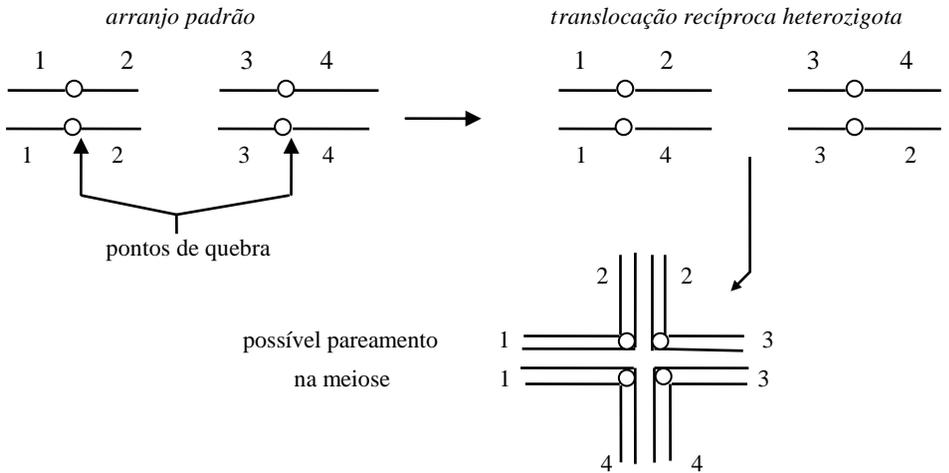
No cruzamento entre indivíduos homozigotos *bar* normalmente se espera que todos os descendentes sejam *bar*. No entanto os pesquisadores observaram que surgiam moscas selvagens e moscas com olho extremamente reduzido (chamadas duplo *bar*), numa frequência de 1 : 600, entre os descendentes desses cruzamentos. Foi verificado então que isso ocorria devido à sinapse imprópria (pareamento anormal) e permuta desigual na meiose, como esquematizado abaixo. Podemos observar que a união de dois gametas do segundo tipo resultará em indivíduos duplo *bar*, enquanto a união de dois gametas do terceiro tipo originará indivíduos selvagens.



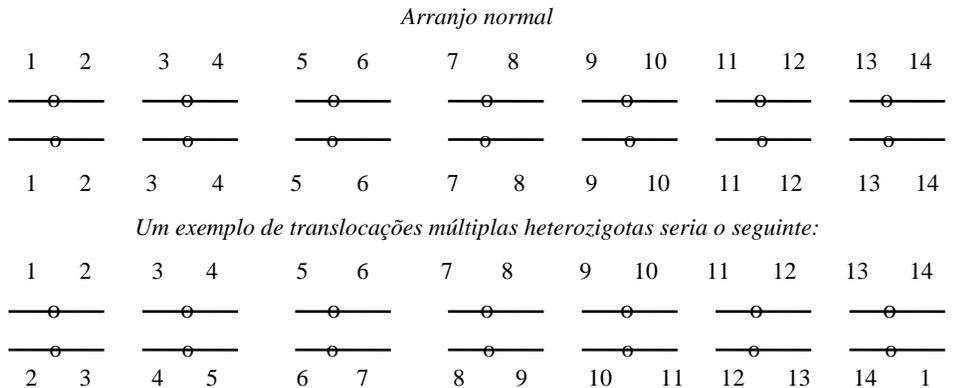
As inversões podem ser pericêntricas (envolvem o centrômero) ou paracêntricas (não envolvem o centrômero).



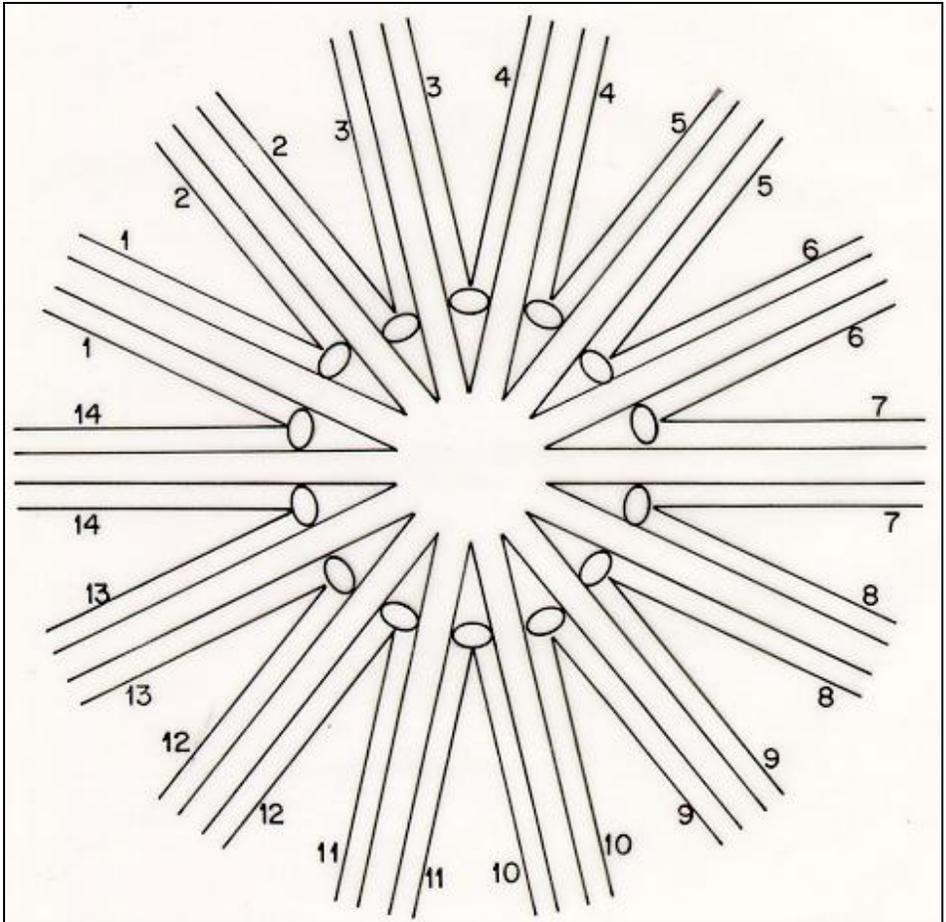
As translocações resultam de quebras e uniões em locais diferentes do original (combinações não homólogas), podendo ser recíprocas ou não, conforme o esquema abaixo.



No gênero *Oenothera* ocorrem translocações múltiplas envolvendo os sete pares de cromossomos. Dependendo do tipo de translocação que ocorra, no pareamento poderá ocorrer a formação de várias configurações. O exemplo abaixo mostra um caso onde há formação de um anel de 14 cromossomos no pareamento meiótico.



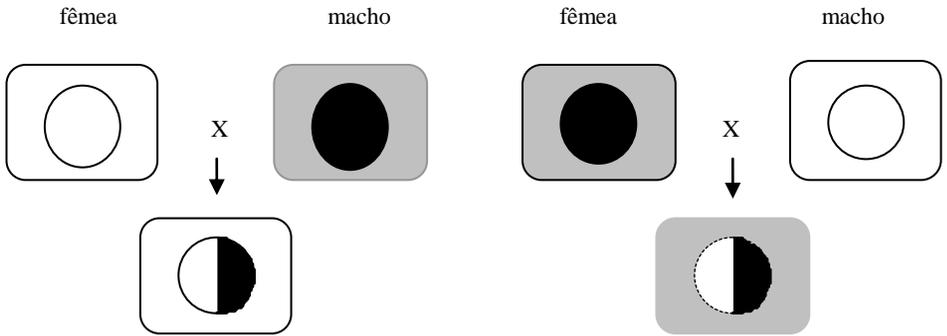
No pareamento meiótico ocorre um anel de 14 cromossomos como esquematizado abaixo.



X. HERANÇA EXTRA-CROMOSSÔMICA

Até o momento vimos o material genético (DNA) colocado nos cromossomos com atividades no citoplasma (síntese de proteínas). No entanto sabemos que existem os DNAs mitocondrial, cloroplastidial e dos plasmídeos (procaríotos). Esse DNA também possui genes atuantes na vida normal da célula e do indivíduo. Nos eucariotos as características governadas por locos colocados nesse material genético são consideradas como de herança extra-cromossômica.

Os *genes dos plasmídeos* dos vegetais que, em sua maioria, codificam enzimas envolvidas no processo fotossintético passam naturalmente de uma célula para outra durante as divisões mitóticas e meióticas. Da mesma maneira temos *genes das mitocôndrias*, que estão ligados à síntese de enzimas envolvidas na respiração. Como o pólen leva pouco ou nenhum citoplasma, os genes citoplasmáticos são transmitidos, de geração a geração, pelo óvulo, ou seja, pela mãe. Assim diz-se que o citoplasma dos descendentes é igual ao citoplasma da mãe enquanto o núcleo terá metade do material genético vindo da mãe e metade vindo do pai. Por isso, no caso da herança citoplasmática, os descendentes apresentarão sempre o fenótipo materno, como esquematizado abaixo. Esse tipo de resultado em cruzamentos recíprocos é uma sugestão de que a característica seja governada por genes citoplasmáticos e não nucleares (cromossômicos).



Em *Mirabilis jalapa* (maravilha) ocorrem mutações somáticas (em ramos vegetativos) para síntese de clorofila, aparecendo, na mesma planta, ramos verdes normais, albinos e variegados. O fenótipo dos descendentes de cruzamento entre flores desses ramos segue sempre o fenótipo do ramo que forneceu o óvulo (ramo materno).

Ramo verde (fêmea) x Ramo albino ou variegado (macho)

↓
100% plantas verdes

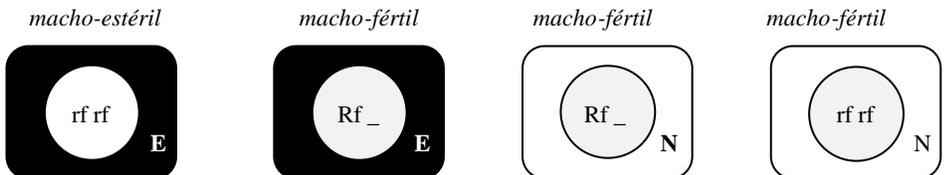
Ramo verde ou variegado (macho) x Ramo albino (fêmea)

↓
100% plantas albinas

Ramo variegado (fêmea) x Ramo verde ou albino (macho)

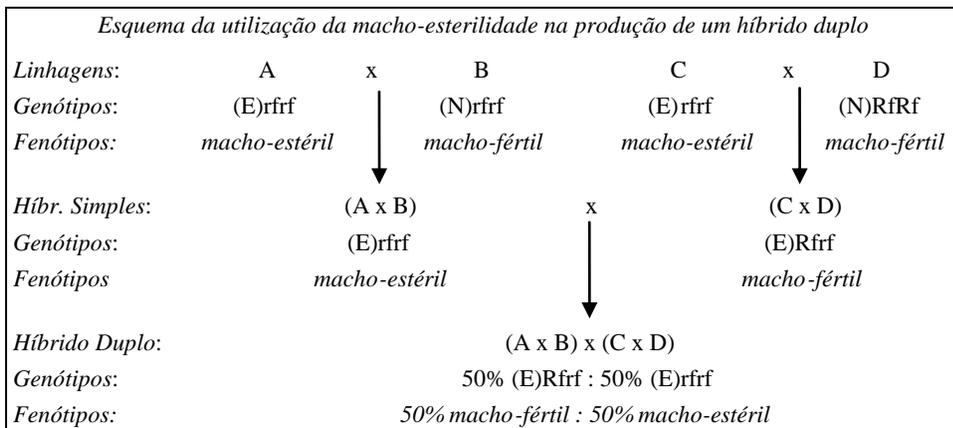
↓
100% plantas variegadas

Um outro exemplo bem prático de genes citoplasmáticos, ligados à mitocôndria no caso, é a esterilidade masculina citoplasmática, registrada em mais de 80 espécies. Devemos chamar atenção neste ponto que a macho-esterilidade pode ser apenas genética (governada por genes do núcleo), apenas citoplasmática (governada por genes do citoplasma), ou ainda genético-citoplasmática (ação conjunta de genes nucleares e citoplasmáticos). Na mesma espécie pode ocorrer mais de um tipo. Vejamos o exemplo do milho onde, além da macho-esterilidade genética, ocorre também um tipo de macho-esterilidade genético-citoplasmática. Para a planta ser macho-estéril (sem produção de pólen) é necessário a presença do fator citoplasmático (E) além da condição homocigota recessiva de um gene nuclear chamado de restaurador da fertilidade (Rf). Se o genótipo nuclear for Rf_ a planta será fértil, independentemente se a condição do citoplasma for normal (N) ou estéril (E).



Como os locos nucleares podem apresentar mais de um alelo, os genes citoplasmáticos também são variados. Em milho existem os chamados citoplasmas T, S e C, além de outros, para macho esterilidade, que são utilizados na prática, para a produção de milho híbrido. O híbrido é a geração F₁ de um cruzamento e no milho esses cruzamentos são feitos entre linhagens puras. O

cruzamento de duas linhagens puras resulta em um *híbrido simples*; se cruzarmos um híbrido simples com outra linhagem teremos um *híbrido triplo*; e se cruzarmos dois híbridos simples teremos um *híbrido duplo*. Como o milho possui a parte masculina (pendão) separada feminina (espiga), há necessidade da retirada do pendão (despendoamento) da planta que vai participar como mãe no cruzamento. Essa operação eleva o custo de produção das sementes híbridas e pode ser evitada se a planta mãe for macho-estéril.



Como o mais comum em populações de milho é o genótipo (N)rfrf, para se utilizar a macho-esterilidade na produção de híbridos há necessidade da introdução do citoplasma macho-estéril na linhagem feminina do cruzamento e do gen restaurador (Rf) na linhagem masculina.

Qualquer esquema de produção de híbridos inicia-se com despendoamento das linhagens femininas. Quando se deseja utilizar a macho-esterilidade é necessário a introdução do citoplasma macho-estéril nessas linhagens. Isso é feito através do cruzamento da linhagem com uma fonte (W) macho-estéril e sucessivos retrocruzamentos (em torno de 7) com a linhagem inicial para recuperar as características da mesma. Desta maneira consegue-se ter duas versões da mesma linhagem, ou seja, macho-fértil e macho-estéril. O genótipo das duas são idênticos e apenas o citoplasma é diferente. Para multiplicação das sementes de ambas basta cruzá-las e as sementes colhidas na linhagem macho estéril serão macho-estéreis e as sementes colhidas na linhagem macho fértil serão macho-férteis, como mostrado no esquema da página seguinte.

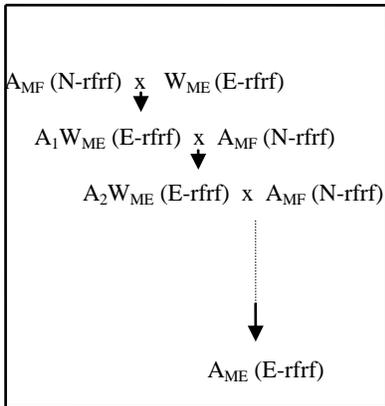
Para a introdução do gene restaurador (Rf) também é necessário o cruzamento com uma fonte de genótipo RfRf e sucessivos retrocruzamentos para recuperar as características da linhagem.

Para identificar os indivíduos N-RfRf é necessário um cruzamento teste de parte das sementes de cada autofecundação com uma fonte macho-estéril E-rfrf. Aquelas que mostrarem 100% dos descendentes macho-férteis serão do tipo N-RfRf. Voltando-se às sementes remanescentes de cada autofecundação estas são reunidas em uma única amostra que será a linhagem D agora com o genótipo RfRf. Para mantê-la basta semeá-la em lote isolado e deixar inter cruzar normalmente, como esquematizado abaixo.

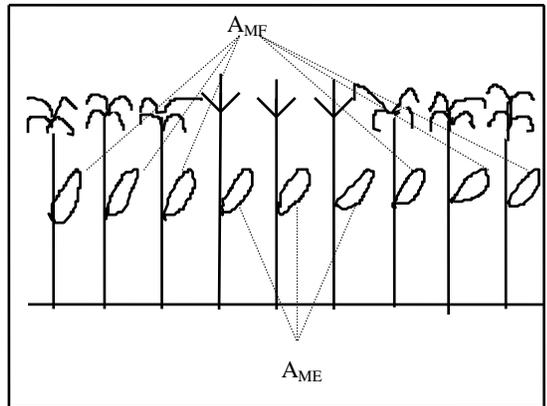
Efeito materno

Efeito materno é o fenômeno pelo qual a herança de determinada característica do indivíduo é controlada por genes nucleares da sua mãe. O fenótipo do indivíduo não é a expressão dos seus próprios genes, mas sim dos genes da sua mãe. O efeito materno pode ser efêmero ou persistente. Diferenciando-se da herança citoplasmática, os efeitos maternos não são autopropagantes, mantendo-se apenas por uma ou no máximo duas gerações. Um exemplo de efeito materno efêmero é a pigmentação no *Lepidóptero Ephestia*.

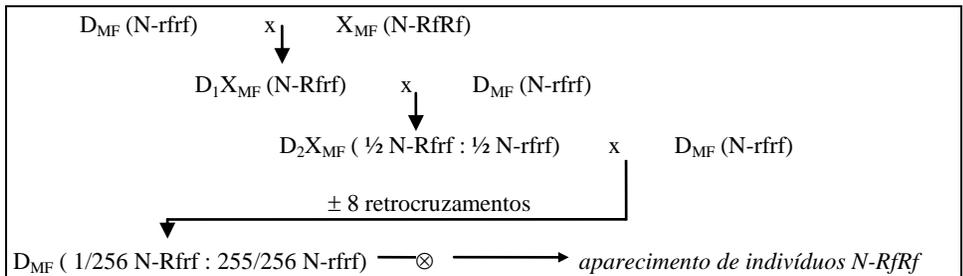
Introdução da macho-esterilidade



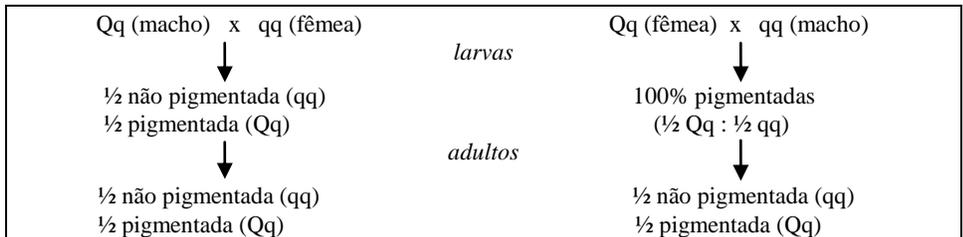
Manutenção das linhagens



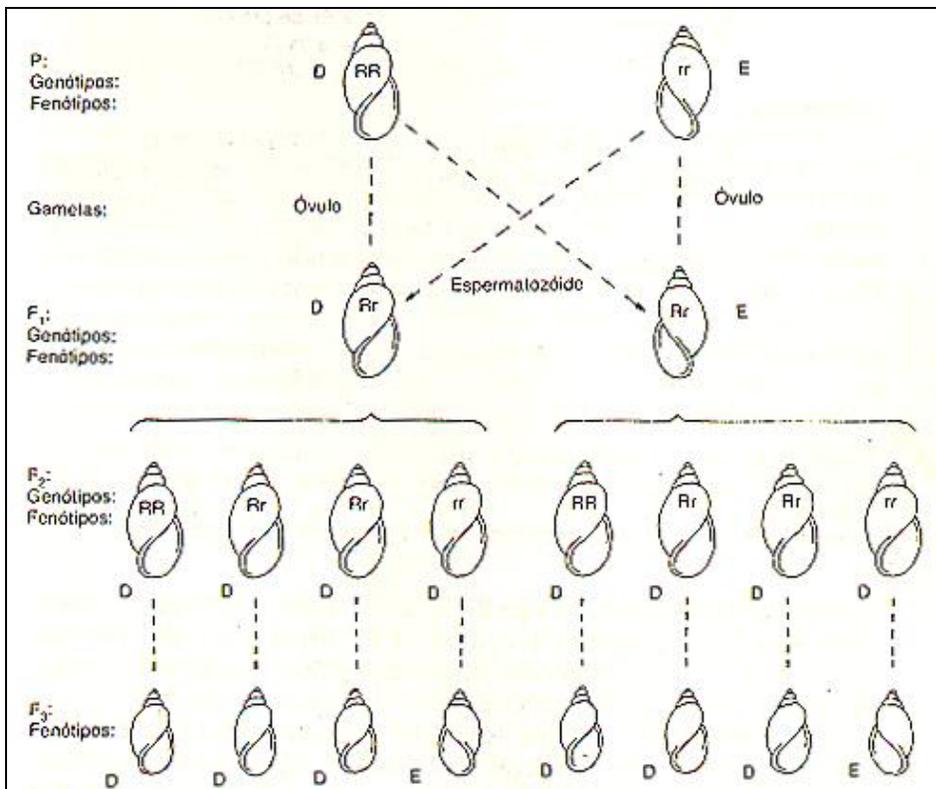
Introdução do gen restaurador em linhagens



Indivíduos de genótipo $Q_$ são pigmentados devido a presença do pigmento quinurenina, cuja síntese é catalisada pela enzima codificada pelo alelo Q . Se o genótipo for qq o indivíduo adulto apresenta o fenótipo não pigmentado. No entanto as larvas qq filhas de mães $Q_$ são pigmentadas pelo fato da mãe depositar um pouco de quinurenina no ovo. Quando essas larvas qq tornam-se adultas o estoque de quinurenina se esgota e elas tornam-se não pigmentadas.



O sentido da espiral no caramujo *Limnea* é um exemplo de efeito materno persistente. As conchas desses caramujos podem ser espiraladas para a direita (destro) ou para a esquerda (sinistro) e é a mãe que organiza o citoplasma do ovo, independente do genótipo deste. Desta maneira as mães $R_$ produzem progênie toda destra e mães rr produzem progênie toda sinistra, fornecendo resultados diferentes em cruzamentos recíprocos, como esquematizado na figura.



Características governadas por mais de um loco (quantitativas) também sofrem efeito materno. O peso de bezerras ao nascer não depende apenas do seu genótipo, mas também do genótipo da mãe que quem alimenta o feto. A coloração de sementes muitas vezes não expressa o genótipo da mesma, mas sim o genótipo de sua mãe, uma vez que o tegumento da semente é tecido materno. Para verificar a expressão do genótipo do embrião é necessário observar mais uma geração. Também o acúmulo de substâncias nas sementes depende muito do genótipo da planta mãe, uma vez que é ela quem elabora e transloca tais substâncias para as sementes, como vemos abaixo no cruzamento recíproco entre duas linhagens de feijão.

Teor de proteína no grão de feijão

PI 169760 (fêmea) 20,42%	x	PI 229815 (macho) 27,12%	PI 229815 (fêmea) 27,12%	x	PI 169760 (macho) 20,42%
↓				↓	
F ₁ →	19,58%				27,26%

XI. EFEITO DO AMBIENTE

O genótipo é um conjunto de potencialidades sobre a qual o ambiente exerce sua ação, resultando o fenótipo observado. Daí considerar-se a fórmula $F = G + A$.

Embora o efeito mais marcante do ambiente seja sobre características quantitativas, muitos exemplos são encontrados no caso de características qualitativas. O ambiente atua na

penetrância e na *expressividade* dos genes.

Penetrância é a % de indivíduos que expressam o fenótipo correspondente entre os portadores do mesmo genótipo e expressividade é o fenômeno pelo qual há uma variação no grau de expressão do fenótipo, uns expressando de maneira mais forte e outros de maneira mais fraca.

Tomando como exemplo a coloração em feijão carioca, temos a o alelo L que é responsável pela presença de listras marrons na semente, de coloração creme claro. Observa-se que cerca de 5% das sementes da cultivar não apresentam listras, embora todas sejam LL. Isso indica que a penetrância do alelo L é de 95%. O padrão das listras também é variável, pois existem sementes com apenas traços marrons, até aquelas quase inteiramente marrons. Isso mostra também uma variação na expressividade do alelo L.

Os efeito do ambiente podem ser divididos em externos (temperatura, nutrição, luz, umidade) e internos (idade, sexo). Vejamos alguns exemplos:

1 - *Coloração em coelhos* - Em coelhos o genótipo cc confere o fenótipo himalaia que é a presença de pigmentos pretos ou marrons nas extremidades do animal branco. O pigmento é a melanina, cuja síntese é catalisada pela tirosinase que só é ativa em temperaturas abaixo de 15°C, ou seja, nas extremidades do animal;

2 - *Coloração das flores em Primula sinensis* - O genótipo B₋ produz flores vermelhas em temperaturas menores que 30°C e flores brancas em temperaturas maiores que 30°C. O genótipo bb produz flores brancas em qualquer temperatura. Temos aqui o exemplo de uma enzima que precisa de temperaturas mais altas para ser ativa;

3 - *Coloração da gordura em carneiros* - O genótipo yy confere o fenótipo gordura amarela em carneiros quando estes são alimentados com forragem verde (presença de xantofila). Quando alimentados com forragem seca (xantofila degradada), os mesmos indivíduos passam a ter gordura branca. Os indivíduos Y₋ todos possuem gordura branca, independente da alimentação e possuem maior valor de comercialização;

4 - *Sexo nas abelhas* - Como já foi visto em aulas anteriores, nas abelhas o macho é haplóide e a alimentação determina se uma larva diplóide será uma operária (alimentação comum) ou uma rainha (alimentação com geleia real);

5 - *Produção de clorofila* - Os genes para produção de clorofila não se expressam na ausência de luz, produzindo uma fenocópia do mutante genético albino. Por isso que quando se apara um gramado e amontoa-se a grama cortada sobre ele, os brotos que emergem sob o monte são todos albinos. Assim que a grama cortada é retirada esses brotos tornam-se verdes novamente. Na verdade as enzimas para síntese da clorofila é que precisam de luz para serem ativada;

6 - *Gen "sun red" em milho* - Muitas vezes observamos plantas de milho com o caule arroxeadado, porém apenas nas regiões expostas ao sol. Se retirar-mos as bainhas das folhas verificamos que nesse local o caule é verde. Isso indica a presença desse gene que também só se expressa nas partes iluminadas da planta;

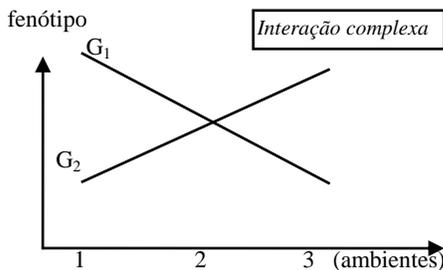
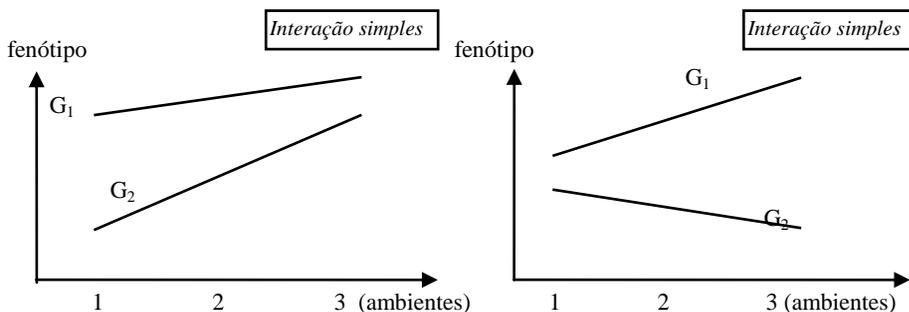
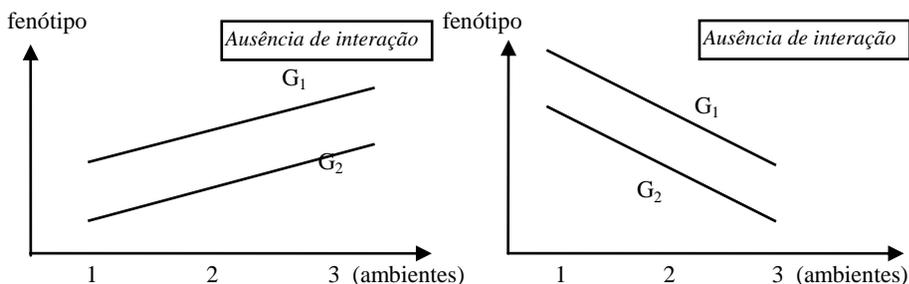
7 - *Diabetes* - Alguns tipos de diabetes só aparecem após os 40 anos de idade;

Como exemplos de efeito do sexo sobre o genótipo podemos citar a calvície que é dominante no homem e recessivo na mulher; a produção de leite nos mamíferos que se expressa apenas nas fêmeas; e a presença de chifres em gado bovino que é dominante nos machos e recessivo nas fêmeas.

Um fenômeno de grande importância para a agricultura é a *interação genótipo x ambiente* que pode ser definida como o comportamento diferencial de genótipos em diversos ambientes. É muito comum em características quantitativas, como a produtividade, e só pode ser detectada quando comparamos mais de um genótipo em mais de um ambiente. Como exemplo bem simples podemos observar que o aumento na quantidade e qualidade da ração fornecida, aumenta a produção de leite na raça holandesa, mas nem tanto na raça nelore. Outro exemplo é a qualidade do fruto de laranjeiras das cultivares Washington navel e Satsuma Mandarin em diferentes altitudes no Hawaii.

Cultivares	Altitude	
	150m	300m
Washington navel	alta qualidade	baixa qualidade
Satsuma Mandarin	baixa qualidade	alta qualidade

Para tentarmos entender o conceito de interação genótipo x ambiente, vamos imaginar um gráfico de duas dimensões, com o valor fenotípico da característica na vertical e os diferentes ambientes (3 no caso) na horizontal. No caso temos apenas 2 genótipos e a presença ou não de interação e os diferentes tipos possíveis são mostrados abaixo.



Tomando um outro exemplo na agricultura, vamos considerar o rendimento de seis cultivares de feijão (t/ha) em três localidades, na Colômbia.

	Santa Fé	Popayan	Pasto	Médias de

Cultivares	(alta temp.)	(média temp.)	(baixa temp.)	cultivares
P 589	2,23	3,10	0,00	1,78
S 315-N	2,22	2,27	0,00	1,65
Jamaica	1,53	3,27	0,19	1,66
Línea 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
Médias de locais	1,35	2,67	0,41	---

Como visto, as consequências da interação genótipo x ambiente podem ser resumidas nos seguintes pontos: 1) O mesmo genótipo pode produzir fenótipos diferentes; 2) O mesmo fenótipo pode ser produzido por genótipos diferentes; 3) Há necessidade do teste de progênies e repetição em experimentos para uma possível separação dos efeitos genotípicos e fenotípicos; 4) Muitas vezes há necessidade de programas localizados de melhoramento.

De uma maneira geral para a agricultura, é interessante notar que o melhoramento ambiental (preparo do solo, adubação, controle de pragas, grandes quantidades de alimentos, etc) e o melhoramento genético precisam caminhar juntos pois "*De nada vale genótipo superior em ambiente inadequado e não adianta melhorar o ambiente se o genótipo não é adequado*".

XII. GENÉTICA DE POPULAÇÕES

Neste item vamos considerar um ou mais locos, com seus alelos, dentro de uma população. Verificaremos os mecanismos da hereditariedade a nível populacional e não em cruzamentos específicos e dirigidos.

População é definida como um conjunto de indivíduos da mesma espécie, que ocupam o mesmo local, apresentam uma continuidade no tempo e possuem a capacidade de se inter cruzar ao acaso, e portanto, de trocar alelos entre si, compartilhando um conjunto gênico comum. Muitas vezes é chamada de *população panmítica* ou *população mendeliana*.

As propriedades genéticas das populações são determinadas a partir do conhecimento de suas *frequências alélicas*

(*frequências gênicas*) e *frequências genotípicas*. Frequência alélica ou gênica é a proporção dos diferentes alelos de um determinado loco na população. Se imaginarmos todos os gametas formados pela população, a porcentagem de gametas que carregam um determinado alelo é a frequência daquele alelo na população. Frequência genotípica é a proporção dos diferentes genótipos na população. Tomando-se todos os indivíduos de uma população a porcentagem de indivíduos com um determinado genótipo é a frequência daquele genótipo na população. Como na maioria dos casos as populações são grandes, tanto a frequência alélica como a genotípica são calculadas através de uma amostra de indivíduos da população. Sabendo-se o número de indivíduos de cada genótipo é possível calcular ambas as frequências.

Vamos tomar como exemplo o caráter cor da pelagem em uma população de gado da raça Shortorn, onde o genótipo $C^V C^V$ produz fenótipo vermelho, o genótipo $C^V C^B$ produz fenótipo ruão (uma mistura de vermelho e branco) e o genótipo $C^B C^B$ produz fenótipo branco. Em uma amostra de 420 animais dessa população foram verificados 137 vermelhos, 196 ruão e 87 brancos. Portanto a frequência genotípica será:

$$\text{Frequência do genótipo } C^V C^V = f(C^V C^V) = 137/420 = 0,326 \text{ ou } 32,6\%;$$

$$\text{Frequência do genótipo } C^V C^B = f(C^V C^B) = 196/420 = 0,467 \text{ ou } 46,7\%;$$

$$\text{Frequência do genótipo } C^B C^B = f(C^B C^B) = 87/420 = 0,207 \text{ ou } 20,7\%.$$

A frequência alélica será:

$$\text{Frequência do alelo B} = f(B) = p = \frac{2 \times 137 + 196}{2 \times 420} = \frac{137 + 196 / 2}{420} = 0,5595$$

$$\text{Frequência do alelo b} = f(b) = q = \frac{2 \times 87 + 196}{2 \times 420} = \frac{87 + 196 / 2}{420} = 0,4405$$

Procurando generalizar as fórmulas de cálculo das frequências alélicas temos:

$$p = \frac{2D + H}{2N} = \frac{D + H / 2}{N} = f(\text{homozigoto1}) + f(\text{heterozigoto}) / 2$$

$$q = \frac{2R + H}{2N} = \frac{R + H / 2}{N} = f(\text{homozigoto2}) + f(\text{heterozigoto}) / 2$$

É interessante notar que o homozigoto entra com peso 2 no cálculo da frequência alélica pois todos os seus gametas serão portadores do mesmo alelo, enquanto o heterozigoto entra com peso 1 por que metade dos seus gametas serão portadores de um alelo e metade de outro. Também devemos ressaltar que em caracteres com ação codominante dos alelos, fica fácil identificar todos os genótipos, mas quando temos dominância há necessidade de cruzamento teste para a realização dessa tarefa. Ficou claro também que sendo conhecidas as frequências genotípicas é possível, a partir delas, se chegar às frequências gênicas. Outro ponto a ser considerado é que, exceto para locos ligados ao sexo, as frequências alélicas são iguais nos gametas femininos e masculinos e a soma das mesmas para um determinado loco é $p + q = 1$.

Equilíbrio de Hardy-Weinberg

Supondo um loco em uma população panmítica com os alelos A e a nas frequências p e q , o resultado do intercruzamento ao acaso entre os indivíduos, para formar a geração 1, pode ser representado da seguinte maneira:

	M	(p) A	(q) a
F			
	(p) A	(p ²) AA	(pq) Aa
	(q) a	(pq) Aa	(q ²) aa

Portanto a frequência genotípica após o intercruzamento será: $f(AA) = p^2$; $f(Aa) = 2pq$; e $f(aa) = q^2$, que é o desenvolvimento do binômio $(p+q)^2$. Através dessa frequência genotípica podemos calcular a frequência alélica da geração 1, da maneira explicada anteriormente:

$$p_1 = p^2 + (1/2) (2pq) = p; \quad q_1 = q^2 + (1/2) (2pq) = q$$

Se fizermos o mesmo para as gerações 2, 3, 4, etc, verificaremos que a frequência alélica será sempre p e q e a frequência genotípica será sempre p^2 , $2pq$ e q^2 . Uma outra maneira de verificarmos isso é fazendo todos os cruzamentos ao acaso possíveis entre os genótipos e verificar a frequência genotípica da geração seguinte.

	M	(p ²) AA	(2pq) Aa	(q ²) aa
F				
	(p ²) AA	(p ⁴) AA x AA	(2p ³ q) AA x Aa	(p ² q ²) AA x aa
	(2pq) Aa	(2p ³ q) AA x Aa	(4p ² q ²) Aa x Aa	(2pq ³) Aa x aa
	(q ²) aa	(p ² q ²) AA x aa	(2pq ³) Aa x aa	(q ⁴) aa x aa

Cada acasalamento terá uma determinada frequência e produzirá uma descendência específica, conforme podemos verificar no quadro abaixo, onde verificamos novamente que a frequência genotípica não mudou em relação à população original.

A frequência genotípica p^2 , $2pq$ e q^2 é chamada de frequência do equilíbrio de Hardy-Weinberg. Esses pesquisadores estabeleceram as condições necessárias para que esse equilíbrio, ou seja essa constância na frequência genotípica, geração após geração, ocorra. A lei do equilíbrio de Hardy-Weinberg é expressa da seguinte maneira:

Acasalamentos	Frequência	Descendência		
		AA	Aa	aa
AA x AA	p^4	p^4	-	-
AA x Aa	$4p^3q$	$2p^3q$	$2p^3q$	-
AA x aa	$2p^2q^2$	-	$2p^2q^2$	-
Aa x Aa	$4p^2q^2$	p^2q^2	$2p^2q^2$	p^2q^2
Aa x aa	$4pq^3$	-	$2pq^3$	$2pq^3$
aa x aa	q^4	-	-	q^4
Totais	1	p^2	$2pq$	q^2

“Em uma população grande, que se reproduz por acasalamento ao acaso e onde não há migração, mutação ou seleção e todos os indivíduos são igualmente férteis e viáveis, tanto as frequências alélicas como genotípicas mantêm-se constantes ao longo das gerações.”

Em caso de dominância completa, se a população estiver em equilíbrio, as frequências alélicas podem ser determinadas pela frequência do genótipo homocigoto recessivo (q^2). Encontrando-se q determina-se $p=1-q$ e também a frequência do homocigoto dominante (p^2) e do heterocigoto ($2pq$) que não podem ser separados visualmente na população devido à dominância.

Verificação do equilíbrio para um loco

Podemos ter as frequências genotípicas e/ou alélicas e precisarmos saber se a população está ou não em equilíbrio. A frequência genotípica do equilíbrio é p^2 , $2pq$ e q^2 . Se calcularmos p e q na população podemos comparar essa frequência genotípica esperada do equilíbrio com a frequência genotípica observada, através do teste do qui-quadrado. Vamos tomar uma população de plantas de onde se retirou uma amostra de 105 indivíduos com a seguinte frequência genotípica para coloração das flores: 59% de flores vermelhas (BB); 34,3% de flores rosas (Bb); e 6,7% de flores brancas (bb). Esta população está em equilíbrio?

A frequência alélica será: $f(B) = p = 0,590 + 0,343/2 = 0,7615$; $f(b) = q = 0,067 + 0,343/2 = 0,2385$. Portanto a frequência genotípica esperada com equilíbrio será: $p^2 = 0,5799$ de flores vermelhas; $2pq = 0,3632$ de flores rosas; e $q^2 = 0,0569$ de flores brancas. Para se fazer o teste do qui-quadrado não podemos utilizar as frequências em decimais, mas sim transformadas para o tamanho da amostra. Para isto basta multiplicarmos as frequências em decimais pelo tamanho da amostra (105) e teremos o seguinte teste qui-quadrado:

Fenótipo	f_o	f_e	$(f_e - f_o - 1/2)^2/f_e$
Vermelho	$0,590 \times 105 = 62$	$0,5799 \times 105 = 61$	0,0041
Rosa	$0,343 \times 105 = 36$	$0,3632 \times 105 = 38$	0,0592
Branco	$0,067 \times 105 = 7$	$0,0569 \times 105 = 6$	0,0417
	105	105	0,1050

O número de graus de liberdade nesses casos é o número de alelos do loco em questão menos 1. Neste caso o grau de liberdade é $2-1=1$ e o qui-quadrado é não significativo, permitindo que aceitemos a hipótese de que a frequência genotípica observada é igual à frequência genotípica esperada. Portanto a população está em equilíbrio para este loco.

Equilíbrio em mais de um loco

Vamos supor que em uma população os locos A(a) e B(b) sejam independentes e que $f(A) = p$; $f(a) = q$; $f(B) = r$; $f(b) = s$. As frequências dos gametas formados nesta população, considerando os dois locos, são: $f(AB) = pr$; $f(Ab) = ps$; $f(aB) = qr$; $f(ab) = qs$. Realizando-se uma geração de cruzamentos ao acaso teremos:

	(pr) AB	(ps) Ab	(qr) aB	(qs) ab
(pr) AB	(p ² r ²) AABB	(p ² rs) AABb	(pqr ²) AaBB	(pqrs) AaBb
(ps) Ab	(p ² rs) AABb	(p ² s ²) AAbb	(pqrs) AaBb	(pqs ²) Aabb
(qr) aB	(pqr ²) AaBB	(pqrs) AaBb	(q ² r ²) aaBB	(q ² rs) aaBb
(qs) ab	(pqrs) AaBb	(pqs ²) Aabb	(q ² rs) aaBb	(q ² s ²) aabb

Portanto a frequência genotípica esperada do equilíbrio será: $f(AABB) = p^2r^2$; $f(AaBB) = 2pqr^2$; $f(aaBB) = q^2r^2$; $f(AABb) = 2p^2rs$; $f(AaBb) = 4pqrs$; $f(aaBb) = 2q^2rs$; $f(AAbb) = p^2s^2$; $f(Aabb) = 2pqs^2$; $f(aabb) = q^2s^2$, que é o desenvolvimento do termo $(pr + ps + qr + qs)^2$. Estando disponíveis ou sendo possível calcular as frequências genotípicas de uma amostra da população, podemos calcular as frequências alélicas p, q, r e s. Encontramos as frequências genotípicas esperadas e comparamos com as observadas através do qui-quadrado.

Uma população fora do equilíbrio pode entrar em equilíbrio de Hardy-Weinberg com uma ou mais gerações de cruzamentos ao acaso. Quando consideramos apenas um loco basta uma geração, mas com mais de um loco há necessidade de pelo menos quatro gerações de intercruzamentos ao acaso para se atingir o equilíbrio.

Vamos tomar como exemplo uma população de onde foi retirada uma amostra de 10.000 indivíduos com a seguinte constituição para dois locos: $f(AAbb) = 5.000$; $f(aabb) = 4.000$; $f(aaBB) = 1.000$; e frequência zero para os demais genótipos. As frequências alélicas serão:

Considerando apenas o loco A(a) a frequência genotípica observada é $f(AA) = 0,5$; $f(Aa) = 0$ e $f(aa) = 0,5$ e a frequência alélica é $f(A) = p = 5.000/10.000 = 0,5$; $f(a) = q = 6.000/10.000 = 0,5$. A frequência esperada do equilíbrio é $f(AA) = p^2 = 0,25$, $f(Aa) = 2pq = 0,5$ e $f(aa) = q^2 = 0,25$. Realizando-se uma geração de cruzamentos ao acaso teremos:

Cruzamentos possíveis	Frequência dos cruzamentos	Descendência dos cruzamentos
AA x AA -	(0,5) ²	AA
AA x aa -	2(0,5)(0,5)	Aa
aa x aa -	(0,5) ² -	aa

Portanto, na geração 1 teremos $f(AA) = 0,25$, $f(Aa) = 0,5$ e $f(aa) = 0,25$, como frequência observada. Realizando-se o teste qui-quadrado para a geração 0 e a geração 1 verificamos que uma geração de cruzamentos ao acaso foi suficiente para a população entrar em equilíbrio para esse loco.

	Geração 0			Geração 1		
	f _o	f _e	(f _e - f _o - 1/2) ² /f _e	f _o	f _e	(f _e - f _o - 1/2) ² /f _e
AA	5.000	2.500	2.499	2.500	2.500	0
Aa	0	5.000	4.999	5.000	5.000	0
aa	5.000	2.500	2.499	2.500	2.500	0
	10.000	10.00	$\chi^2=9.997^{**}$	10.000	10.000	$\chi^2=0$

Considerando apenas o loco B(b) a frequência genotípica observada é $f(BB) = 0,1$; $f(Bb) = 0$ e $f(bb) = 0,9$ e a frequência alélica é $f(B) = r = 1.000/10.000 = 0,1$; e $f(b) = s =$

9.000/10.000 = 0,9. A frequência esperada do equilíbrio é $f(BB) = r^2 = 0,01$, $f(Bb) = 2rs = 0,18$ e $f(aa) = s^2 = 0,81$. Realizando-se uma geração de cruzamentos ao acaso teremos:

Cruzamentos possíveis	Frequência dos cruzamentos	Descendência dos cruzamentos
BB x BB	(0,1) ²	BB
BB x bb	2(0,1)(0,9)	Bb
bb x bb	(0,9) ²	bb

Portanto, na geração 1 teremos $f(BB) = 0,01$, $f(Bb) = 0,18$ e $f(bb) = 0,81$, como frequência observada. Realizando-se o teste qui-quadrado para a geração 0 e a geração 1 verificamos que uma geração de cruzamentos ao acaso foi suficiente para a população entrar em equilíbrio para esse loco.

	Geração 0			Geração 1		
	f _o	f _e	(f _e - f _o - 1/2) ² /f _e	f _o	f _e	(f _e - f _o - 1/2) ² /f _e
BB	1.000	100	8.091	100	100	0
Bb	0	1.800	1.799	1.800	1.800	0
bb	9.000	8.100	100	8.100	8.100	0
	10.000	10.000	$\chi^2=9.990^{**}$	10.000	10.000	$\chi^2=0$

Considerando os locos conjuntamente, a frequência genotípica esperada do equilíbrio será $f(AABB) = p^2r^2 = f(AaBB) = 2pqr^2$; $f(aaBB) = q^2r^2$; $f(AABb) = 2p^2rs$; $f(AaBb) = 4pqrs$; $f(aaBb) = 2q^2rs$; $f(AAbb) = p^2s^2$; $f(Aabb) = 2pqs^2$; $f(aabb) = q^2s^2$; como visto anteriormente. Realizando 3 gerações de cruzamentos ao acaso verificaremos que os desvios entre as frequências observada e esperada do equilíbrio vão diminuindo e, conseqüentemente o valor do qui-quadrado.

Genó-tipo	f _e do equi- líbrio	Geração 0		Geração 1		Geração 2		Geração 3	
		f _o	$\frac{(f_o-f_e)^2}{f_e}$						
AABB	25	0	25	0	25	6,25	14,1	14,06	4,8
AABb	450	0	450	0	450	237,5	100,3	346,88	23,6
AAbb	22025	5000	4370	2500	111	2256,25	26,4	2139,06	6,4
AaBB	50	0	50	0	50	37,5	3,1	46,88	0,2
AaBb	900	0	900	1000	11	925	0,8	906,25	0,0
Aabb	4050	0	4050	4000	0,6	4037,5	0,0	4046,87	0,0
aaBB	25	1000	38025	100	225	56,25	39,1	39,06	7,9
aaBb	450	0	450	800	272	637,5	78,1	546,88	20,9
aabb	2025	4000	1975	1600	89	1806,25	23,6	1914,06	8,1
	10000		$\chi^2=50295^{**}$		$\chi^2=1234^{**}$		$\chi^2=285,5^{**}$		$\chi^2=69,9^{**}$

Considera-se que 4 a 5 gerações são suficientes para que uma população entre em equilíbrio para vários locos. Esses números são utilizados no melhoramento genético, quando se busca a formação de populações novas para seleção ou quando se busca o equilíbrio de uma variedade de polinização livre para ser utilizada comercialmente. No entanto devemos lembrar que isto é válido quando os locos são independentes, pois em caso de ligação o número de gerações poderá ser maior.

As cultivares comerciais de plantas autógamas como feijão, arroz, trigo, soja, etc, são linhagens puras ou mistura de linhagens puras, embora já existam híbridos de arroz no Japão. O conceito de equilíbrio fica prejudicado nestes casos pois são plantas autógamas, ou seja, não ocorre cruzamentos ao caso.

No caso de plantas alógamas, as linhagens puras são populações em equilíbrio pois todos os locos são homocigotos com frequência alélica $p=0$ e $q=1$ ou $p=1$ e $q=0$. As frequências

genotípicas, neste caso são $p^2 + 2pq = q^2 = 0$. Neste tipo de plantas as cultivares comerciais são variedades de polinização aberta (populações em equilíbrio) ou híbridos (gerações F_1). No caso de híbridos, a maioria dos locos estão 100% em heterozigose ($2pq=1$ e $p^2=q^2=0$), constituindo-se em populações desequilibradas. Isto explica o fato de que há uma diminuição na produtividade quando se utiliza a semente F_2 colhida de um híbrido. Os locos em heterozigose ($p=q=0,5$ e $2pq=1$ e $p^2=q^2=0$) tendem a entrar em equilíbrio com a mesma frequência alélica, porém com frequência genotípica $p^2=0,25$; $2pq=0,50$; e $q^2=0,25$, aparecendo os homozigotos inferiores que estavam escondidos pela dominância nos heterozigotos.

Fatores que alteram o equilíbrio

Seleção - Quando escolhemos indivíduos de uma população em detrimento de outros, estamos praticando seleção, que é a base do melhoramento genético. Isto implica na eliminação de determinados genótipos da população, o que irá afetar a frequência gênica e o equilíbrio genotípico.

Vamos tomar como exemplo uma população de milho com os alelos Br (planta normal) e br (planta baixa), em equilíbrio, portanto com $f(\text{Br})=p$; $f(\text{br})=q$; $f(\text{BrBr})=p^2$; $f(\text{Brbr})=2pq$; $f(\text{brbr})=q^2$. Eliminando-se as plantas brbr a frequência será alterada, porém o alelo br não será eliminado da população.

Genótipos	Antes da seleção (geração 0)	Após seleção (geração 1)	Novas frequências alélicas
Br_2Br_2	p_0^2	p_0^2	$p_1 = \frac{p_0^2 + p_0q_0}{p_0^2 + 2p_0q_0} = \frac{1}{1 + q_0}$
Br_2br_2	$2p_0q_0$	$2p_0q_0$	-----
br_2br_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	$p_0^2 + 2p_0q_0$	1 1

Se continuarmos essa seleção por várias gerações, a frequência desse alelo em uma geração t de seleção será $q_t = q_0 / (1 + tq_0)$. A mudança na frequência gênica será $\Delta q = q_1 - q_{t-1}$, que diminuirá à medida que avançarmos nos ciclos seletivos. Através da Tabela abaixo podemos verificar a dificuldade em se eliminar um alelo recessivo de uma população, por seleção simples. Quanto menos frequente for o alelo, mais difícil será sua eliminação. Se esse alelo for um “gen maior”, governando um caráter qualitativo, a saída seria uma teste de progênie.

Ciclos seletivos	Frequências alélicas	Δq	Δq (%)
0	$q_0 = 0,4000$	---	---
1	$q_1 = 0,2857$	-0,1143	-28,6
2	$q_2 = 0,2222$	-0,0635	-22,2
3	$q_3 = 0,1818$	-0,0404	-18,2
4	$q_4 = 0,1538$	-0,0208	-15,4
5	$q_5 = 0,1333$	-0,0205	-13,3
6	$q_6 = 0,1177$	-0,0156	-11,7
7	$q_7 = 0,1053$	-0,0124	-10,5
8	$q_8 = 0,0953$	-0,0103	-9,8

Migração - O fenômeno de incorporação de alelos de uma população em outra é denominado de migração. Isso ocorre através de mistura de sementes, polinizações com pólen de

outra população e introdução de animais, ou sêmen de animais, de outra procedência. A mudança na frequência alélica comportar-se-á da seguinte maneira: $q_1 = q_0(1 - M) + QM$ e $\Delta_q = M(Q - q_0)$, onde q_0 é a frequência do alelo antes da migração, q_1 é a frequência do alelo após a migração, M é proporção de indivíduos migrantes, Q é frequência do alelo na população de migrantes e Δ_q é a mudança na frequência alélica na população.

Vamos tomar como exemplo uma população de milho em equilíbrio de Hardy-Weinberg, onde as frequências dos alelos Br_2 e br_2 são respectivamente 0,6 e 0,4. Em uma amostra de 4.000 sementes representativas desta população serão misturadas 1.000 sementes de uma população contendo apenas indivíduos braquíticos. A frequência alélica na nova população será:

$$q_1 = 0,4(1 - 1.000/5.000) + 1(1.000/5.000)$$

Mutação: Sendo um processo que cria novos alelos nas populações, fica bem claro que tanto a frequência alélica como a genotípica serão alteradas quando isso ocorre. Antes da mutação a frequência alélica é $p=1$ e $q=0$ e a frequência genotípica é $p^2=1$ e $2pq=q=0$, ou $p=0$ e $q=1$ e $q^2=1$ e $p^2=2pq=0$. Quando a mutação ocorre teremos imediatamente um indivíduo heterozigoto na população e q ou p não será mais zero, assim como $2pq$ e q^2 ou $2pq$ e p^2 . Mudanças maiores nessas frequências vão depender da frequência das mutações e da ação da seleção natural ou artificial sobre o mutante.

Processo dispersivo - Este processo ocorre, sem direção definida, devido ao efeito de amostragem dos gametas, ou dos indivíduos que formarão a geração seguinte. Se essa amostragem, por um motivo qualquer, não representar bem a população, as frequências alélicas e genotípicas poderão variar em qualquer direção.

Quando uma população tem o seu tamanho reduzido, por exemplo, dificilmente todos os alelos estarão representados com a frequência da geração anterior. Como consequência pode ocorrer a fixação ou eliminação de determinados alelos. Além disso também ocorrerá uma maior frequência de acasalamentos entre indivíduos aparentados (*endogamia*).

A endogamia provoca uma alteração na frequência genotípica, aumentando a frequência de homozigotos. Para entendermos isso, basta verificarmos o que acontece com a frequência genotípica ao longo de várias gerações de autofecundação, que é o tipo de acasalamento que promove o máximo de endogamia, pois um indivíduo mais aparentado com ele é ele mesmo.

Tomemos o loco A(a) em uma população em equilíbrio, onde:

$$f(A) = p_0; f(a) = q_0; f(AA) = p_0^2; f(Aa) = 2p_0q_0; f(aa) = q_0^2.$$

Esquematizando uma geração de autofecundação teremos:

$$\begin{array}{l} (p_0^2) \quad AA \quad \otimes \quad AA \\ (2p_0q_0) \quad Aa \quad \otimes \quad (1/4)AA + (1/2)Aa + (1/4)aa \\ (q_0^2) \quad aa \quad \otimes \quad aa \end{array} \begin{array}{l} \nearrow \\ \searrow \end{array} \begin{array}{l} f(AA) = p_0^2 + (1/2)p_0q_0 \\ f(Aa) = p_0q_0 \\ f(aa) = q_0^2 + (1/2)p_0q_0 \end{array}$$

$$p_1 = p_0^2 + (1/2)p_0q_0 + (1/2)p_0q_0 = p_0 \qquad q_1 = q_0^2 + (1/2)p_0q_0 + (1/2)p_0q_0 = q_0$$

Com a segunda geração de autofecundação teremos:

$$\begin{array}{l} [p_0^2 + (1/2)p_0q_0] \quad AA \quad \otimes \quad AA \\ (p_0q_0) \quad Aa \quad \otimes \quad (1/4)AA + (1/2)Aa + (1/4)aa \\ [q_0^2 + (1/2)p_0q_0] \quad aa \quad \otimes \quad aa \end{array} \begin{array}{l} \nearrow \\ \searrow \end{array} \begin{array}{l} f(AA) = p_0^2 + (1/2)p_0q_0 + (1/4)p_0q_0 \\ f(Aa) = (1/2)p_0q_0 \\ f(aa) = q_0^2 + (1/2)p_0q_0 + (1/4)p_0q_0 \end{array}$$

$$p_2 = p_0^2 + (1/2)p_0q_0 + (1/4)p_0q_0 + (1/4)p_0q_0 = p_0$$

$$q_2 = q_0^2 + (1/2)p_0q_0 + (1/4)p_0q_0 + (1/4)p_0q_0 = q_0$$

Como verifica-se, a cada geração de autofecundação metade dos heterozigotos tornam-se homozigotos, o que permite concluir que “endogamia leva à homozigose e altera a frequência genotípica”.

XII. HERANÇA QUANTITATIVA

Até o momento foram tratados basicamente caracteres de tipo, facilmente classificadas em poucas categorias fenotípicas distintas, chamados de *caracteres qualitativos*. No entanto vários caracteres, inclusive muitos de grande importância agrônômica, exibem uma variabilidade enorme de fenótipos que se fundem uns com os outros (diferenças mínimas entre si), caracterizando o que chamamos de variabilidade contínua. Dentre esses *caracteres quantitativos*, encontramos muitos economicamente importantes tais como o ganho de peso nos animais, altura de plantas, produção de ovos, produção de leite, produção de grãos por hectare, peso de frutos, etc. Estima-se que 80 a 90% dos projetos genéticos experimentais práticos no mundo envolvam herança quantitativa.

As diferenças básicas entre os caracteres qualitativos e quantitativos diz respeito ao número de genes que contribuem para a variabilidade fenotípica e ao maior ou menor efeito do ambiente. Os caracteres qualitativos estão sob controle de um ou poucos locos gênicos que possuem grande efeito e têm pouquíssima ou nenhuma influência do ambiente. As quantitativas são governadas por muitos locos (poligenes), que possuem pequeno efeito, cada um contribuindo com uma pequena parcela para o fenótipo. Além disso a influência do ambiente é muito acentuada sobre esses locos, contribuindo ainda mais para aumentar a variabilidade fenotípica.

<i>Caracteres qualitativos</i>	<i>Caracteres quantitativos</i>
- Caracteres de tipo	- Caracteres de grau (mensuráveis)
- Variação descontínua (poucas classes fenotípicas distintas)	- Variação contínua (muitas classes, as vezes sobrepostas)
- Controlada por poucos locos gênicos	- Controlada por muitos locos gênicos
- Genes com efeitos pronunciados (genes maiores)	- Genes com pequeno efeito (poligenes)
- Pouco efeito ambiental	- Grande efeito ambiental

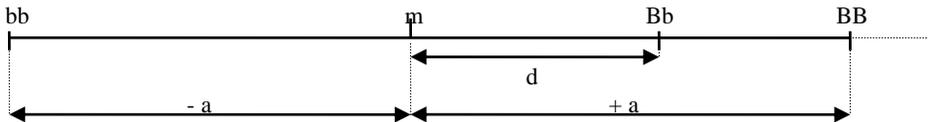
Entre 1900 e 1910, logo após a redescoberta das Leis de Mendell, muitos geneticistas chegaram a pensar em um mecanismo de herança diferente dos propostos por Mendell, pois não conseguiam adaptar a variação descontínua às segregações mendelianas. No entanto logo perceberam que as únicas diferenças, do ponto de vista genético, estavam no número de locos afetando o mesmo caráter e nos efeitos pequenos mais cumulativos dos genes envolvidos. Devido a esses aspectos a segregação dos genes envolvidos não pode ser seguida individualmente, como nos caracteres qualitativos ou mendelianos. No entanto cada loco individualmente segue exatamente os postulados de Mendell.

O tipo de ação gênica em cada loco é exatamente como visto nos caracteres qualitativos, aparecendo somente um conceito novo que é o da *ação aditiva*. Embora pareça com a codominância, ela é um pouco mais abrangente pois indica que cada alelo contribui com um pequeno efeito fenotípico o qual é somado aos efeitos dos demais alelos dos demais locos que controlam o caráter, para formar o fenótipo. Por isso, mesmo quando temos efeito de dominância, cada alelo tem uma pequena contribuição para o fenótipo, ou seja, cada alelo tem o seu valor que é o efeito aditivo.

Na *ação dominante* o loco é que contribui com um determinado valor para o fenótipo, pois existe uma interação entre os alelo e o dominante é que manda no valor de cada loco quando está presente.

Também existe a *ação sobredominante* que é aquela situação onde o heterozigoto é superior aos dois homozigotos, e novamente o valor do loco como um todo é contado para formar o fenótipo. *Interações epistáticas* (entre locos) também ocorrem para alguns caracteres.

Supondo um loco B(b), esquematizado abaixo, teremos apenas efeito aditivo se o heterozigoto possuir um valor fenotípico igual à média (m) dos dois homozigotos; teremos dominância parcial quando o valor fenotípico do heterozigoto for maior que a média dos homozigotos (d); teremos dominância completa quando o valor fenotípico do heterozigoto for igual ao do homozigoto (a); e teremos sobredominância se o heterozigoto possuir valor fenotípico maior que o homozigoto (>a).

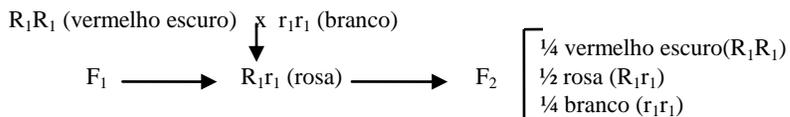


Em termos numéricos suponhamos que o alelo B contribui com 30 unidades para o fenótipo e o alelo b contribui 5. Então o genótipo bb terá fenótipo 10, o genótipo BB terá fenótipo 60 e o genótipo Bb terá fenótipo 35, que é a média dos pais (d=0 no esquema), caracterizando apenas *ação aditiva* dos genes. Se tivermos *ação dominante* do alelo B sobre o b, então o genótipo bb continuará com fenótipo 10 e os genótipos BB e Bb terão fenótipo 60. Com *ação sobredominante* o heterozigoto Bb terá contribuirá com um valor acima de 60 para o valor fenotípico. Nota-se que mesmo havendo dominância ou sobredominância, os alelos continuam tendo seu valor intrínseco, ou seja, manifestando sua ação aditiva. Para verificar a *interação epistática* é necessário considerar vários locos, pois esta é a interação entre locos.

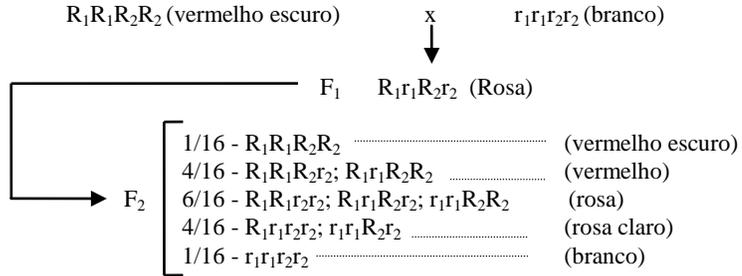
Essa interpretação vale para cada loco envolvido em um caráter quantitativo. Portanto, para o mesmo caráter, podemos ter locos apenas com efeito aditivo, outros com dominância parcial, outros com dominância total e outros com sobredominância. Pode haver predomínio de algum dos efeitos, o que é possível ser detectado em estudos apropriados. Como é impossível se conhecer o tipo de interação de cada loco o que se determina é o efeito predominante nos locos que controlam o caráter. Portanto cabe aos geneticistas procurar medir a magnitude dos componentes genéticos e ambientais da variabilidade fenotípica de cada caráter quantitativo nas populações, uma vez que cruzamentos dirigidos, como foram feitos até o momento, poucas informações trarão. Para esse tipo de estudo é necessário o uso de técnicas estatísticas, além das genéticas tradicionais.

Para entender a ação dos poligenes, vamos considerar o caráter cor do grão em trigo, que é governada por três locos gênicos com apenas ação aditiva. Este é um exemplo real onde primeiramente pensou-se que existiam apenas os fenótipos vermelho e branco. No entanto foi verificado diversos tons de vermelho que na verdade eram outras classes fenotípicas, formadas pela segregação dos alelos R e r de três locos. O indivíduo $r_1r_1r_2r_2r_3r_3$ é branco, e cada alelo R que é incorporado adiciona um pouco de pigmento vermelho, de modo que o genótipo $R_1R_1R_2R_2R_3R_3$ possui o fenótipo vermelho escuro. O cruzamento entre indivíduos totalmente contrastantes, considerando diversas hipóteses para o número de locos daria o seguinte:

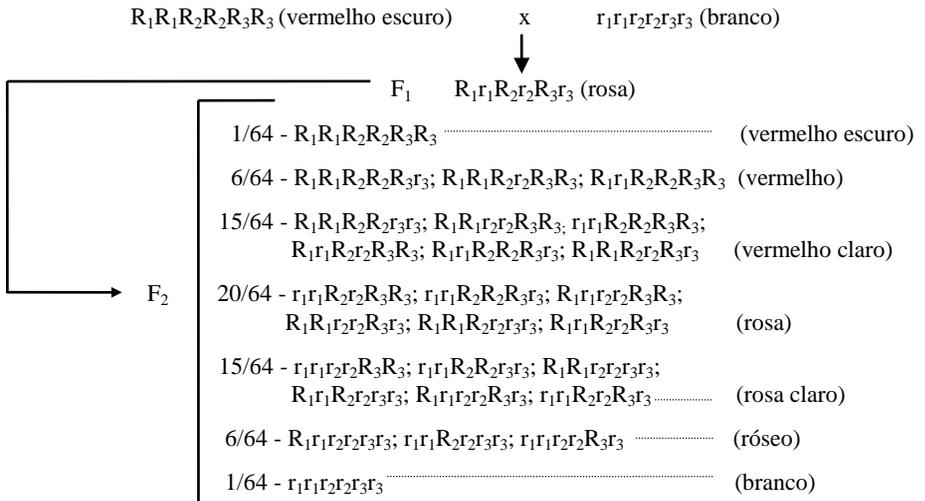
a) *Considerando apenas um loco:*



b) Considerando dois locos:

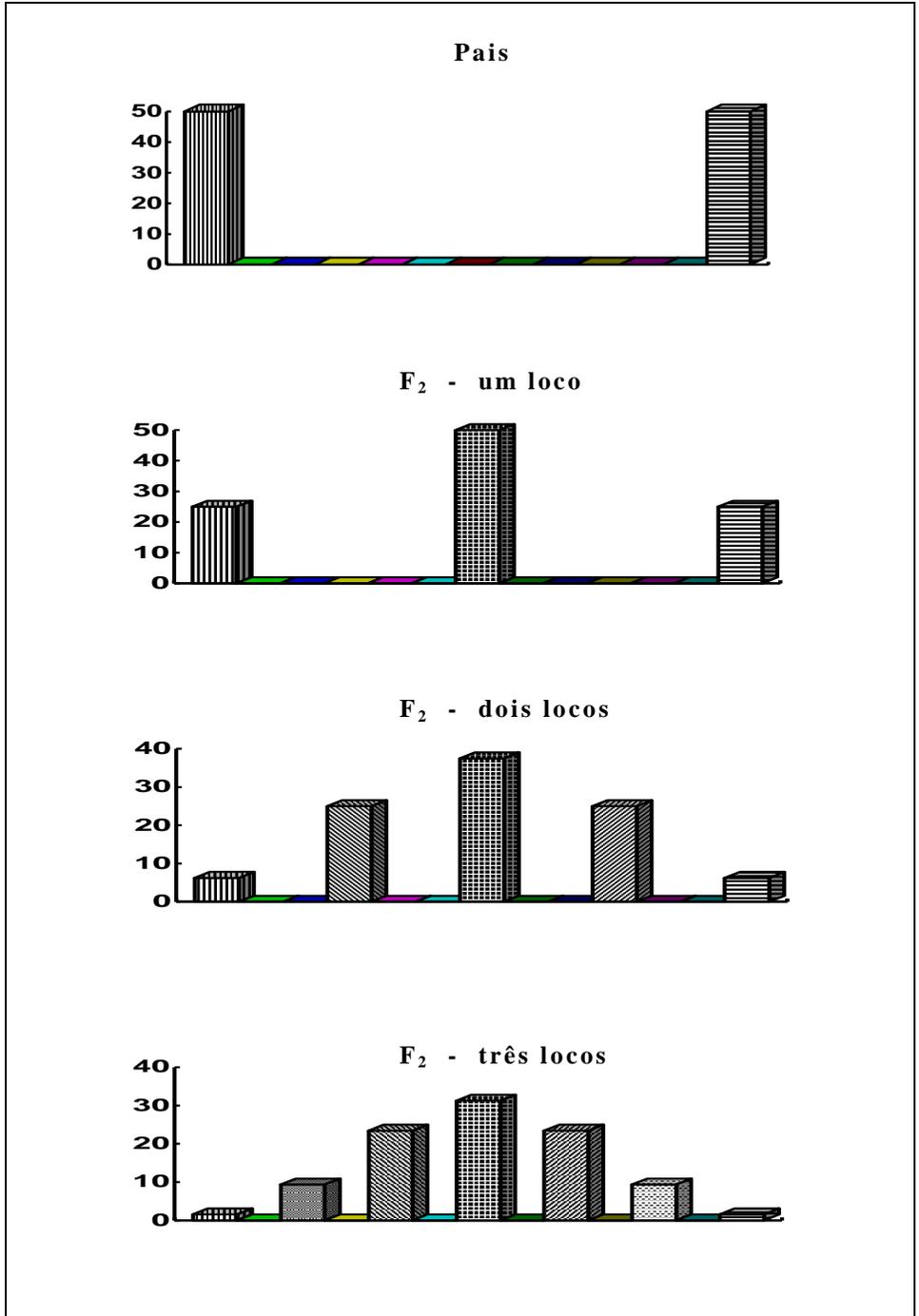


c) Considerando três locos:



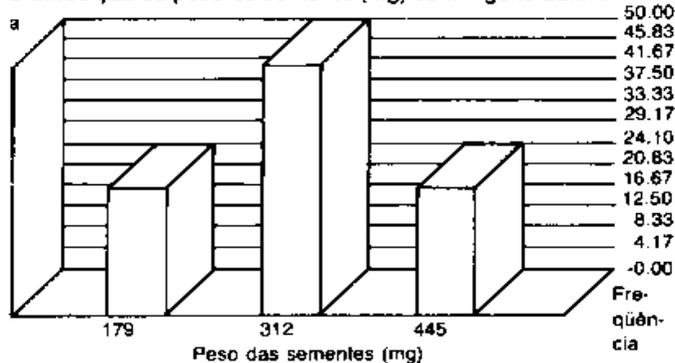
O mesmo exemplo pode ser seguido na figura abaixo, onde podemos notar que a medida que se aumenta o número de locos aumenta-se o número de fenótipos em F₂ e diminui-se a diferença entre os fenótipos vizinhos, tendendo-se para uma distribuição contínua. Esse caráter, considerado “quase quantitativo”, nos mostra como um grande número de locos pode aumentar muito a variabilidade fenotípica. É interessante ressaltar que não foram considerados os efeitos de dominância, sobredominância e do ambiente, o que provocará ainda mais variabilidade. Nas figuras seguintes podemos observar o efeito do aumento no número de locos e também o efeito da dominância na distribuição de frequências de caracteres, considerando os diversos tipos de interação gênica.

Se um caráter for governado geneticamente por m locos com n alelos por loco, o número de genótipos diferentes possível será: $NGD = [n(n+1)/2]^m$. Isso nos dá uma ideia da imensa variabilidade fenotípica de um caráter governado por inúmeros locos (caráter quantitativo). A ocorrência dessa variabilidade é garantida pelos processos básicos vistos no início do curso, como pareamento, segregação de homólogos e recombinação. Portanto a base para a ampliação da variabilidade é o processo meiótico.

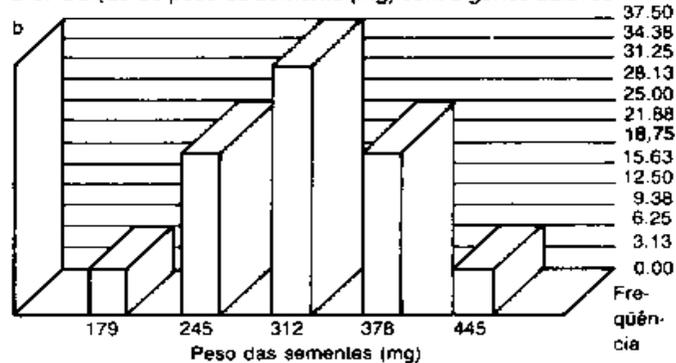


Distribuição de frequência do peso de sementes de feijoeiro, sem efeito ambiental e apenas ação aditiva

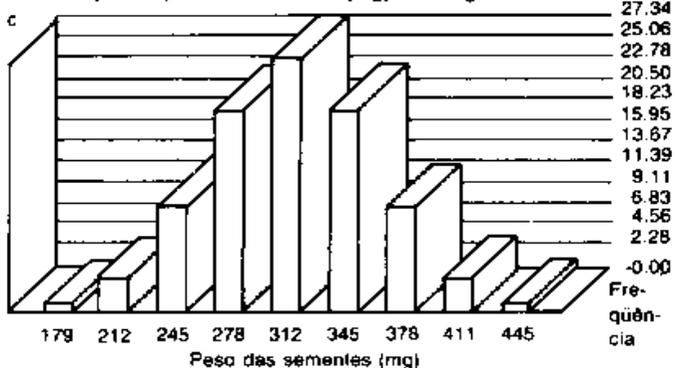
Distribuição do peso de semente (mg) com 1 gene aditivo



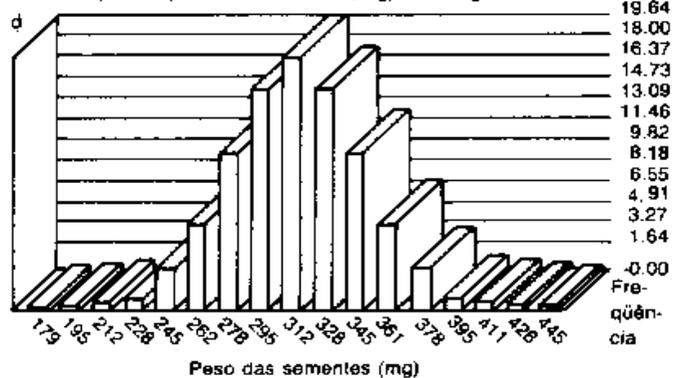
Distribuição do peso de semente (mg) com 2 genes aditivos



Distribuição do peso de semente (mg) com 4 genes aditivos

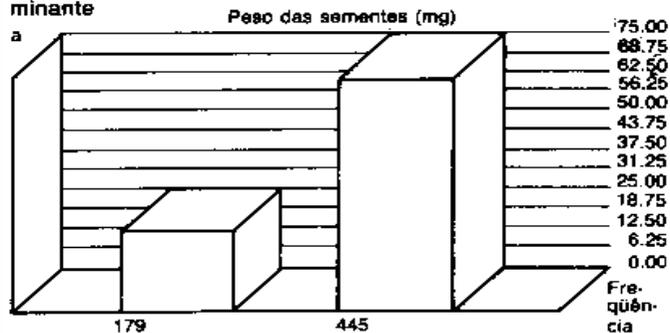


Distribuição do peso de semente (mg) com 8 genes aditivos

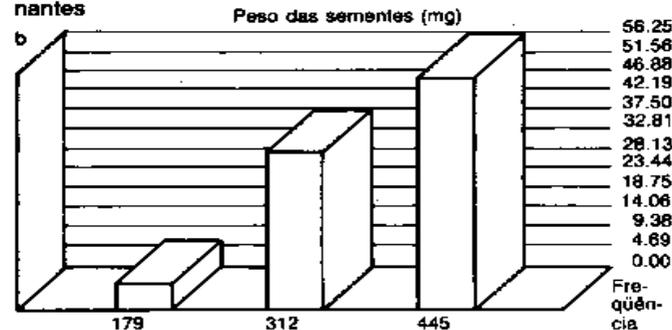


Distribuição de frequência do peso de sementes de feijoeiro, sem efeito ambiental e apenas ação dominante

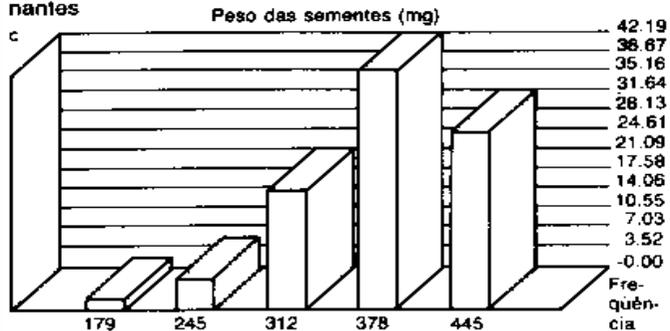
Distribuição do peso de semente (mg) com 1 gene dominante



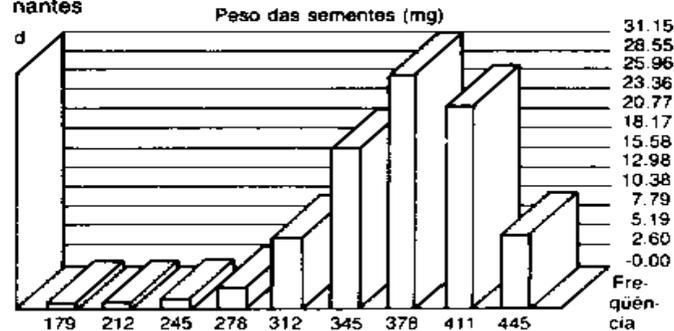
Distribuição do peso de semente (mg) com 2 genes dominantes



Distribuição do peso de semente (mg) com 4 genes dominantes

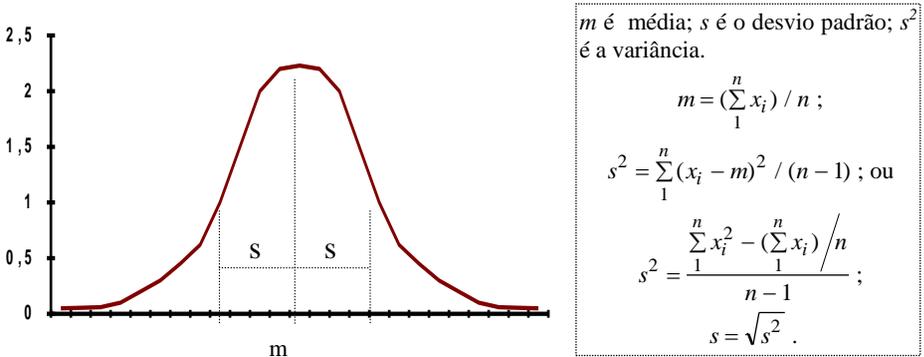


Distribuição do peso de semente (mg) com 8 genes dominantes



A medida pura e simples da característica em um indivíduo representa o seu fenótipo. Porém, nas características quantitativas, devido à grande variabilidade fenotípica, costuma-se trabalhar com progênies, populações ou grupo de indivíduos. Então a média representa o fenótipo dessas populações e a variância (ou desvio padrão) da uma idéia da variabilidade fenotípica existente dentro dessa população. Com uma série de fenótipos individuais da população ($x_1, x_2, x_3, \dots, x_n$) podemos construir uma distribuição de frequências que será uma distribuição normal se a população estiver em equilíbrio (veja esquema).

Distribuição de frequência em uma população em equilíbrio



Componentes do valor e da variância fenotípica

Em uma população de média m , o desvio de cada valor fenotípico em relação à essa média é devido primeiramente ao valor genotípico do indivíduo e depois ao ambiente onde ele se encontra. Da mesma maneira, a diferença fenotípica entre dois indivíduos é devida à diferença dos dois genótipos e aos ambientes em que os dois se encontram. Se imaginarmos uma população segregante de sorgo, a diferença entre duas plantas é devida à diferença entre seus genótipos e aos locais do solo em que cada uma se encontra, que são diferentes naturalmente.

Identificando-se cada genótipo de uma população com o índice i e cada ambiente com o índice j , podemos identificar os valores fenotípicos pelos seus componentes genéticos (g_i 's) e ambientais (e_j 's) da seguinte maneira: $x_{ij} = m + g_i + e_j + (ge_{ij})$, onde (ge_{ij}) é o componente da interação genótipo x ambiente.

Desconsiderando a interação genótipo x ambiente, que só é importante quando os ambientes são muito diferentes, podemos calcular uma variância para os valores fenotípicos x_{ij} , obtendo-se assim a *variância fenotípica* da população. Como é fácil observar pelo esquema abaixo, essa variância é composta pela variância genotípica (variância dos valores genotípicos g_i) e pela variância ambiental (variância dos valores do efeito do ambiente e_j).

$x_{11} = m + g_1 + e_1$	$s_F^2 = s_G^2 + s_E^2;$
$x_{22} = m + g_2 + e_2$	
$x_{33} = m + g_3 + e_3;$	$s_F^2 = \text{variância fenotípica}$
$\vdots \quad \vdots \quad \vdots \quad \vdots$	
$\vdots \quad \vdots \quad \vdots \quad \vdots$	$s_G^2 = \text{variância genotípica};$
$x_{ij} = m + g_i + e_j$	
$s_F^2 = 0 + s_G^2 + s_E^2$	$s_E^2 = \text{variância ambiental.}$

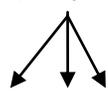
No caso de termos um grupo de indivíduos com o mesmo genótipo (linha pura por ou clone por exemplo), a variância existente será toda devido ao ambiente, ou seja, a variância fenotípica será igual à variância ambiental. Da mesma maneira se conseguirmos um controle ambiental perfeito, de maneira que um grupo de os genótipos diferentes estejam no mesmo ambiente, a variância fenotípica será igual à variância genotípica.

$\begin{aligned} x_{11} &= m + g_1 + e_1 \\ x_{12} &= m + g_1 + e_2 \\ x_{13} &= m + g_1 + e_3 \\ &\vdots \\ &\vdots \\ &\vdots \\ x_{1j} &= m + g_1 + e_j \end{aligned}$	$\begin{aligned} x_{11} &= m + g_1 + e_1 \\ x_{21} &= m + g_2 + e_1 \\ x_{31} &= m + g_3 + e_1 \\ &\vdots \\ &\vdots \\ &\vdots \\ x_{i1} &= m + g_i + e_1 \end{aligned}$
$s_F^2 = 0 + 0 + s_E^2$	$s_F^2 = 0 + 0 + s_E^2$

O primeiro caso pode ser usado para estimar a variância ambiental, mas o segundo fica prejudicado pelo fato de dificilmente conseguirmos ambientes perfeitamente iguais para todos os genótipos. Em condições de laboratório pode se conseguir uma aproximação disso, mas a maneira mais comum de se estimar as variâncias genotípicas e ambientais é através de esquemas experimentais que envolvem repetições de cada genótipo.

Os efeitos genéticos g_i 's são devidos aos diversos tipos de interação gênica (aditiva, dominante e epistática). Portanto a variância genética é composta pela variância devido aos efeitos aditivos dos genes (*variância genética aditiva*), variância devido aos efeitos dominantes dos genes (*variância genética dominante*) e variância devido aos efeitos epistáticos dos genes (*variância genética epistática*). Para os melhoristas são de grande importância as estimativas desses tipos de variância, pois são elas que permitem uma previsão para os sistemas de seleção, além de nortear os procedimentos dos mesmos. Nesta oportunidade não vamos nos aprofundar nesse assunto, mas vamos apenas considerar que a variância genética aditiva é aquela que é melhor explorada em processos de melhoramento de populações.

Um outro parâmetro de importância para o melhorista é a *herdabilidade*, que é a proporção da variância fenotípica devida aos efeitos genéticos. Para o melhoramento populacional é importante a herdabilidade no sentido restrito, que é a proporção da variância fenotípica devida à ação aditiva dos genes.

$s_F^2 = s_G^2 + s_E^2$  $s_F^2 = s_A^2 + s_D^2 + s_I^2 + s_E^2$	$s_F^2 = \text{variância fenotípica};$ $s_G^2 = \text{variância genotípica ou genética};$ $s_E^2 = \text{variância ambiental};$ $s_A^2 = \text{variância genética aditiva};$ $s_D^2 = \text{variância genética dominante};$ $s_I^2 = \text{variância genética epistática};$ $h_A^2 = \text{herdabilidade no sentido amplo};$ $h_R^2 = \text{herdabilidade no sentido restrito}.$
$h_A^2 = s_G^2 / s_F^2$	
$h_R^2 = s_A^2 / s_F^2$	

Quando conseguimos indivíduos homocigotos e totalmente contrastantes para uma determinada característica quantitativa (linhagens puras), podemos realizar cruzamentos dirigidos para estimar a variância genética e a predominância de efeitos aditivos ou dominantes.

Tomemos como exemplo a característica altura de plantas em duas linhagens contrastantes de girassol e suas gerações F_1 e F_2 . A variância ambiental pode ser calculada pela

média das variâncias fenotípicas das duas linhagens e da geração F_1 , pois os genótipos são constantes em cada uma dessas gerações, e a variância fenotípica corresponde à variância ambiental. Na geração F_2 temos diferentes genótipos devido à segregação dos locos heterozigotos de F_1 e aparece também a variância genética. Portanto a variância genética é estimada pela diferença entre a variância fenotípica de F_2 e a variância ambiental.

$$\text{Linha pura 1} - s_F^2 = 0,67 \text{ (m/planta)}^2;$$

$$\text{Linha pura 2} - s_F^2 = 3,57 \text{ (m/planta)}^2;$$

$$F_1 - s_F^2 = 2,31 \text{ (m/planta)}^2;$$

$$F_2 - s_F^2 = 5,01 \text{ (m/planta)}^2;$$

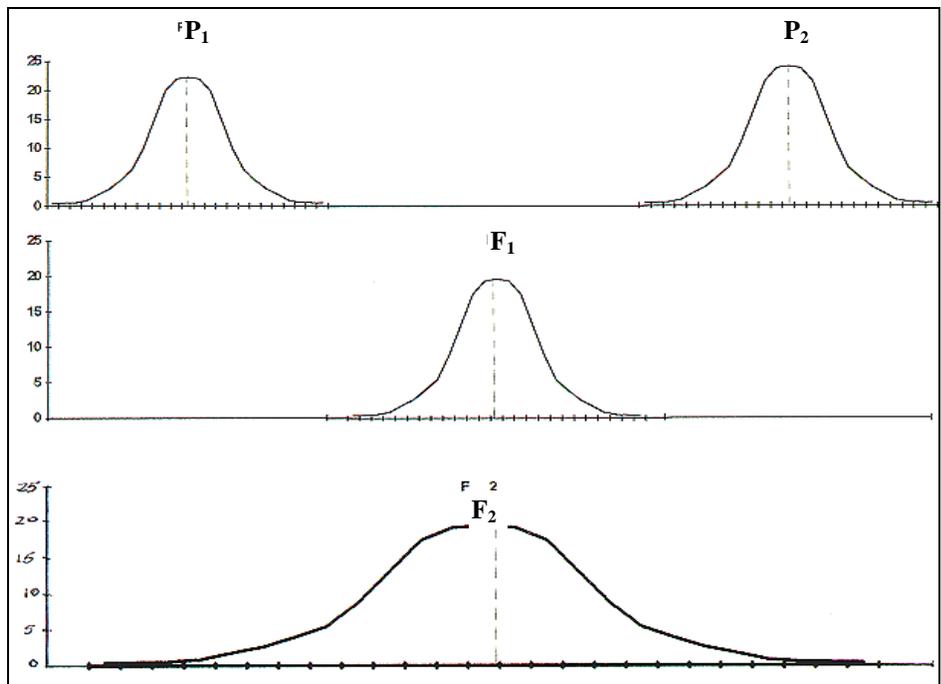
$$s_E^2 = \frac{0,67 + 3,57 + 2,31}{3} = 2,18 \text{ (m/planta)}^2;$$

$$s_G^2 = 5,01 - 2,18 = 2,83 \text{ (m/planta)}^2.$$

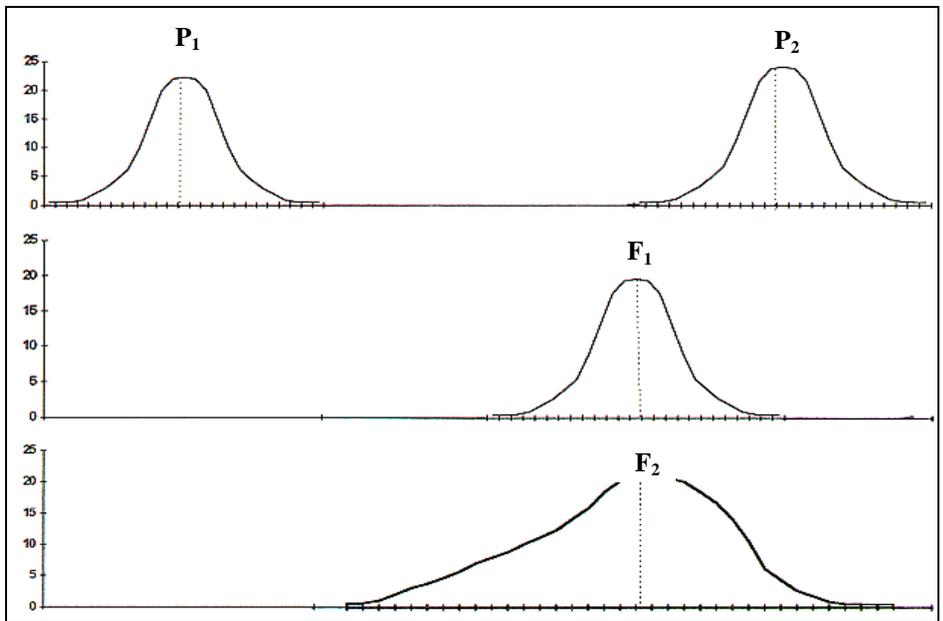
Como todas as gerações possuem variação fenotípica, elas podem ser representadas em distribuições de frequência, o que poderá nos dar uma idéia do tipo de ação gênica que está predominando. Se a média das gerações F_1 e F_2 estiverem muito próximas da média dos pais do cruzamento, a ação predominante é a aditiva. Quanto mais essa média se aproximar de um dos pais, maior será a predominância de ação dominante e caso ultrapasse um dos pais podemos ter apenas variação transgressiva (será visto adiante), ação sobredominante e/ou ação epistática.

Na prática é muito difícil se conseguir os fenótipos extremos para alguma característica, e os métodos utilizados para estudar características quantitativas envolvem complicados sistemas de acasalamentos entre indivíduos da população, avaliação destes cruzamentos com várias repetições e a interpretação estatístico-genética dos resultados, assuntos que não serão tratados aqui.

Cruzamento de genótipos contrastantes apenas com ação aditiva



Cruzamento de genótipos contrastantes com ação dominante

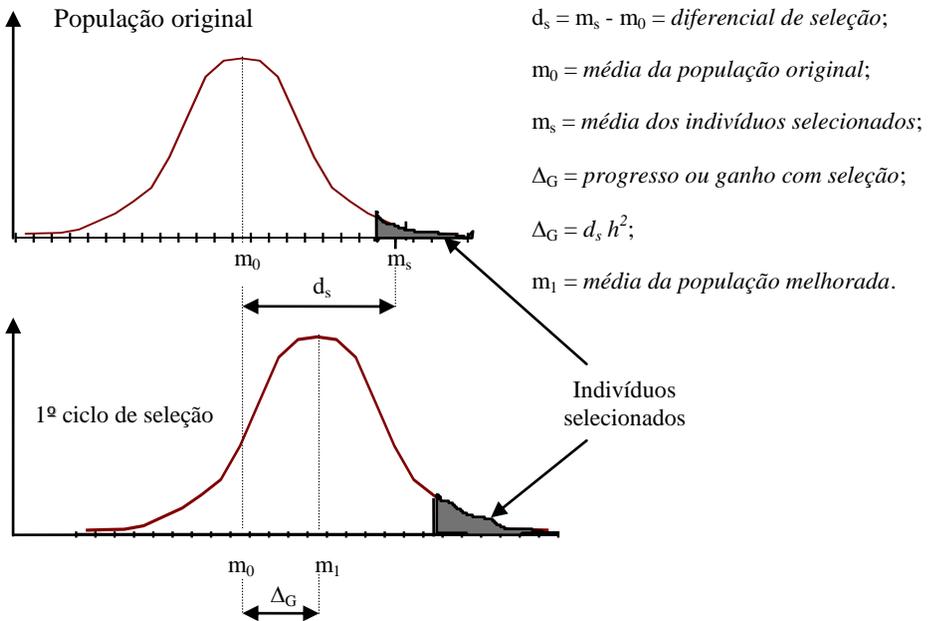


Genética quantitativa e o melhoramento genético de populações

O melhoramento genético, em uma definição bem simples, é a concentração de alelos favoráveis em um indivíduo ou grupo de indivíduos. Isso pode ser conseguido através de cruzamentos apropriados, como na confecção de híbridos, introdução de genes através da engenharia genética e através da seleção e inter cruzamento dos melhores indivíduos de uma população variável. O último tipo constitui o que chamamos de melhoramento genético de populações, que nada mais é do que conseguirmos populações melhores através do aumento da frequência de alelos e genótipos favoráveis através da seleção por várias gerações. Os métodos de seleção são os mais variados possíveis e não serão tratados aqui.

Partindo-se de uma população de média m_0 são selecionados os melhores indivíduos que possuem média m_s . Esses indivíduos são recombinados e formam uma nova população de média m_1 . Essa média não será igual à m_s , pois apenas os efeitos genéticos passam para a próxima geração e não os ambientais. O progresso conseguido com a seleção ($\Delta_G = m_1 - m_0$) é função da *diferencial de seleção* ($d_s = m_s - m_0$) e da herdabilidade da característica considerada, conforme o esquema abaixo. Esse procedimento pode ser repetido quantas gerações forem interessantes para o melhorista.

Vários estudos têm sido feitos no sentido de se tentar descobrir um método para estimar o número de locos que controlam uma determinada característica quantitativa. Os maiores impedimentos para tal são a dificuldade em se conseguir linhagens puras totalmente contrastantes, os diversos tipos de ação gênica, a contribuição desigual de cada alelo e cada loco na formação do fenótipo e o efeito do ambiente. Mesmo assim vamos considerar alguns métodos propostos e veremos que são muito limitados, pois possuem uma série de restrições. Além disso, como nem sempre temos certeza se dois indivíduos são os mais contrastantes para uma determinada característica, devemos considerar a estimativa apenas como o número de locos diferentes entre os dois e não o número de locos que controla a característica em questão, pois sempre existe a possibilidade de surgirem indivíduos mais contrastantes ainda.



Estimativa do número de diferenças gênicas

- Método da frequência dos fenótipos extremos em F₂

Com base nas leis Mendelianas sabemos que uma frequência conhecida dos indivíduos F₂ são idênticos aos pais. Essa frequência é função do número de locos controlando a característica e do número de alelos por loco.

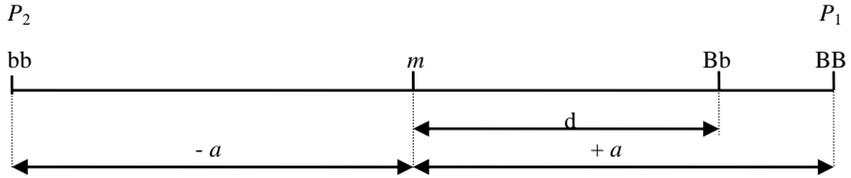
Nº de locos	Número de alelos segregantes	Frequência de recuperação de um dos fenótipos extremos em F ₂
1	2	$(1/2)^2 = 1/4$
2	4	$(1/2)^4 = 1/16$
3	6	$(1/2)^6 = 1/64$
4	8	$(1/2)^8 = 1/256$
.	.	.
.	.	.
n	2n	$(1/2)^{2n}$

Tomemos como exemplo o comprimento da espiga nas raças *Black Mexican* e *Tom Thumb* de milho, onde 1/16 dos indivíduos F₂ são iguais a um parental e 1/16 iguais ao outro. Conclui-se então que as duas raças possuem quatro locos diferentes para essa característica.

B. Mexican (16,8 cm) x T. Thumb (6,6 cm)		Fenótipo (cm)	Frequência	Genótipos
↓		16,8	1/16	AABB
↓		14,2	4/16	2 AaBB; 2 AABb
↓		11,7	6/16	4 AaBb; 1 aaBB; 1 AAbb
↓		9,1	4/16	2 aaBb; 2 Aabb
↓		6,6	1/16	aabb

- Método de Sewall Wright

Considerando os pais homocigóticos e contrastantes, não ocorrência de dominância e epistasia, genes com efeito igual no fenótipo e ausência de ligação, podemos estimar o número de diferenças gênicas (n) com base no esquema de valores fenotípicos para n locos estruturados como no esquema abaixo.



De acordo com este esquema temos: $P_1 = m - a$; $P_2 = m + a$; $P_1 - P_2 = 2a$ (para um loco); $P_1 - P_2 = 2na$ (para n locos); $a = (P_1 - P_2)/2n$; $F_2 = (1/4)(m-a) + (1/4)(m+a) + (1/2)(m+d) \Leftrightarrow F_2 = m + (1/2)d$. A variância de F_2 para um loco é dada pela fórmula $VF_2 = s_G^2 = \sum f_i(x_i - \bar{x})^2$. Portanto: $s_G^2 = (1/4)\{m+a-[m+(1/2)d]\}^2 + (1/2)\{m+d-[m+(1/2)d]\}^2 + (1/4)\{m-a-[m+(1/2)d]\}^2 \Leftrightarrow s_G^2 = (1/2)a^2 + (1/4)d^2 \Leftrightarrow s_G^2 = (1/2)na^2 + (1/4)nd^2$, quando consideramos n locos. Como consideramos apenas ação aditiva, implica que $d=0$ e portanto $s_G^2 = (1/2)na^2$. Substituindo o valor de a colocado inicialmente teremos:

$$s_G^2 = (1/2)n[(P_1 - P_2)/2n]^2 = (P_1 - P_2)^2/8n$$

$$n = \frac{(P_1 - P_2)^2}{8s_G^2}$$

É importante ressaltar que se alguma das condições colocadas no início não for satisfeita, o número de locos será subestimado e que s_G^2 é a variância genética da geração F_2 e não a variância fenotípica.

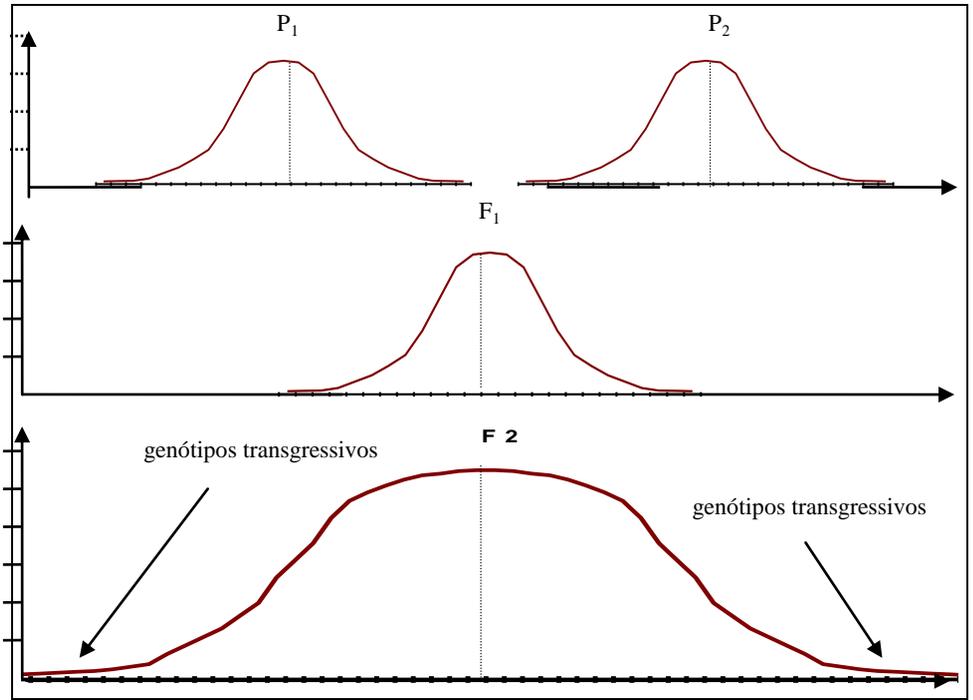
Consideremos, como exemplo, a característica peso de grãos no cruzamento entre duas linhagens de feijoeiro, onde $P_1 = 445,00$ mg, $P_2 = 179,00$ mg, variância fenotípica de $P_1 = 482,76$ (mg)², variância fenotípica de $P_2 = 132,80$ (mg)², variância fenotípica de $F_1 = 323,68$ (mg)² e variância fenotípica de $F_2 = 2220,98$ (mg)².

$$s_G^2 = 2220,98 - (482,76 + 132,80 + 323,68)/3 = 1907,90 \text{ (mg)}^2$$

$$n = (445,00 - 179,00)^2/8 \times 1907,90 = 4,63, \text{ ou } 5 \text{ locos.}$$

Varição transgressiva

Há casos em que os extremos da geração F_2 , ou gerações mais avançadas, excedem os parentais correspondentes. Isto indica que os parentais não representam os máximos extremos possíveis e um indivíduo dessas gerações mais avançadas pode receber uma combinação cujo fenótipo ultrapasse os extremos. Colocando os fenótipos em distribuições de frequência teríamos o seguinte esquema:



Vejamos como exemplo numérico a característica tamanho em galinhas:

Raça *hamburgh* (tamanho grande)
genótipo AABBCCdd

x

Raça *sebright* (garnisé)
genótipo aabbccDD

F_1 AaBbCcDd (tamanho intermediário)

F_2 - Aparecem aves maiores que *hamburgh* (AABBCCDD) e menores que *sebright* (aabbccdd)

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

AZEVEDO, J.L. de. <i>Genética de microrganismos em biotecnologia e engenharia genética</i> . Piracicaba: FEALQ, 1985. 173 p.
BORÉM, A., SANTOS, F.R. <i>Biotecnologia simplificada</i> . Viçosa: Editora Suprema, 2002. 249 p.
BREWBAKER, J.L. <i>Genética na agricultura</i> . Trad. J.T.A. Gurgel & R. Vencovsky. São Paulo: Polígono e Editora da Universidade de São Paulo, 1969. 224 p. Original Inglês.
BURNS, G.W., BOTINO, P.J. <i>Genética</i> . 6ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S/A, 1991. 381 p.
CHAPMAN, A.B. <i>General and quantitative genetics</i> . Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V., 1985. 408 p.
CLARK, B.F.C. <i>O código genético</i> . Trad. J.L. Azevedo. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1980. 79 p. (Temas de biologia, 8). Original Inglês.
COSTA, S.O.P. da. <i>Genética molecular e de microrganismos: os fundamentos da engenharia genética</i> . São Paulo: Editora Manole Ltda., 1987. 559 p.
CROW, J.F. <i>Fundamentos de genética</i> . Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora S/A, 1976. 277 p.
CRUZ, C.D., VIANA, J.M.S., CARNEIRO, P.C. <i>Genética - GBOL</i> . Viçosa: UFV, 2001. 476 p. (Acompanha o CD GBOL).
DODDS, J.H. (Ed.). <i>Plant genetic engineering</i> . Cambridge: Cambridge University Press, 1989. 312 p.
GARDNER, E.J., SNUSTAD, D.P. <i>Genética</i> . 7ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 1986. 497 p.
GRIERSON, D., COVEY, S.N. <i>Plant molecular biology</i> . 2ª ed. New York: Chapman and Hall Inc., 1988. 233 p.
GRIFFITHS, A.J.F., GELBART, W.M., MILLER, J.H., LEWONTIN, R.C. <i>Modern genetic analysis</i> . New York, W. H. Freeman and Company, 1999. 675 p.
GRIFFITHS, A.J.F., MILLER, J.H., SUZUKI, D.T., LEWONTIN, R.C., GELBART, W.M. <i>Introdução à genética</i> . Trad. P.A. Motta, Rio de Janeiro, Editora Ganabara Koogan, 2002. 794 p.
HERSKOWITZ, I.H. <i>Princípios básicos de genética molecular</i> . São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1971. 340 p.
LEHNINGER, A.L. <i>Bioquímica</i> . Trad. J.R. Magalhães et al. 2ª ed. São Paulo: Edgard Blucher, 1977. v. 4, p.595-770. Original Inglês.
LEVINE, R.P. <i>Genética</i> . 2ª ed. São Paulo: Livraria Pioneira Editora, 1977. 235 p.
LEWIN, B. <i>Genes VII</i> . Trad. H.B. Ferreira, Porto Alegre, Artmed, 2001. 955 p.
MANTELL, S.H., MATTHEWS, J.A., McKEE, R.A. <i>Princípios de biotecnologia em plantas: uma introdução à engenharia genética em plantas</i> . Trad. J.L. Azevedo et al. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1994. 344 p. Original Inglês.

METTLER, L.E., GREGG, T.G. <i>Genética de populações e evolução</i> . Trad. R. Vencovsky et al. São Paulo: Polígono e Editora da Universidade de São Paulo, 1973. 262 p. Original Inglês.
RAMALHO, M.A.P., SANTOS, J.B., PINTO, C.A.B.P. <i>Genética na Agropecuária</i> . São Paulo: Editora Globo, 1989. 360 p.
RINGO, J. <i>Genética básica</i> . Rio de Janeiro: Editora Ganabara Koogan, 2005. 390 p.
SNUSTAD, D.P., SIMMONS, M.J. <i>Fundamentos de genética</i> . Rio de Janeiro: Editora Ganabara Koogan, 2001. 756 p.
SOFTWARE GBOL – http://www.ufv.br/dbg/gbol/gbol.htm (Também tem na Biblioteca)
SORIANO, J.M., CRUZ, C.D., BARROS, E.G. <i>Genética – Fundamentos</i> . Viçosa: UFV, 2001. 254 p.
STANSFIELD, W.D. <i>Genética</i> . 2ª ed. rev. aum. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1985. 515 p.
STRICKBERGER, M.W. <i>Genetics</i> . 2ª ed. New York: McMillan Publishing Co., 1976. 914 p.
TORRES, A.C., CALDAS, L.S., BUSO, J.A. (ed.). <i>Cultura de tecidos e transformação genética de plantas</i> . Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPQ, 1998. vol. I e II. 864p.
VAN VLECK, L.D., POLLAK, E.J., OLTENACU, E.A.B. <i>Genetics for the animal sciences</i> . New York: W.H. Freeman and Company, 1987. 391 p.