

MUTAÇÕES GÊNICAS E MUTAÇÕES CROMOSSÔMICAS

Décima terceira aula (T13)

Texto adaptado de:
MOORE, J. A. Science as a Way of Knowing -
Genetics. *Amer. Zool.* v. 26: p. 583-747, 1986.

Objetivos

1. Distinguir mutação espontânea de mutação induzida.
2. Conceituar gene letal.
3. Explicar como Morgan identificou mutações letais ligadas ao sexo em *Drosophila*.
4. Conceituar sistema balanceado de genes letais.
5. Definir inversão cromossômica.
6. Explicar como inversões em estado heterozigótico suprimem recombinação gênica.
7. Descrever as características do sistema *CIB* de *Drosophila melanogaster*.
8. Explicar a detecção de mutações letais ligadas ao sexo em *Drosophila* por meio do sistema *CIB*.
9. Conceituar mutação homeótica.

A DESCOBERTA DAS MUTAÇÕES

Os relatos de De Vries (1901-1903, 1909-1910) sobre o aparecimento freqüente de mutantes na planta *Oenothera glazioviana* (Onagraceae), abundante nas dunas da Holanda, estimularam muitos geneticistas e evolucionistas a procurar novos mutantes em outros organismos (veremos a seguir que os “mutantes” de De Vries não eram mutações verdadeiras, definidas por ele como uma mudança hereditária em um dos alelos de um gene). Era isto que Morgan tinha em mente quando iniciou suas culturas de *D. melanogaster*.

Em espécies de *Drosophila*, assim como em qualquer outro organismo, o aparecimento de novos mutantes é um evento extremamente raro. Drosófilas com olhos brancos ou asas vestigiais só foram encontradas após a análise minuciosa de milhares de indivíduos. Em 1914, Morgan escreveu: “*Na realidade, nossa experiência com Drosophila nos dá a impressão que as mutações são eventos raros, embora o número de mutações obtidas por nós até o momento tenha sido muito grande.*”

Existem duas razões principais para a raridade das mutações. Uma delas é a baixa freqüência

com que um determinado gene sofre mutação; a outra é a recessividade da maioria dos alelos mutantes. Como consequência dessa última situação, a quase totalidade dos alelos mutantes encontra-se no estado heterozigótico, mascarados pelo alelo dominante selvagem. Imagine uma população de 1.000 moscas, em que haja apenas um alelo recessivo presente em um indivíduo heterozigótico, como seria possível detectá-lo?

Durante as primeiras décadas do século XX, os organismos foram submetidos a diversos tratamentos visando o aumento da taxa de mutação. Na esperança de obter novos mutantes, Morgan injetou várias substâncias químicas em diferentes espécies de insetos. Posteriormente, ele expôs drosófilas à radiação, idéia que deve ter vindo de seu colega da *Columbia University*, James Howard McGregor, que foi um dos primeiros a testar o efeito da radiação por rádio em organismos vivos (ele usou gametas e embriões de rãs).

O fato de algumas das linhagens de *D. melanogaster* de Morgan terem sido submetidas à radiação traz a remota possibilidade de que alguns dos primeiros mutantes descobertos possam ter sido induzidos por ela. Contudo, Morgan (1914a) não acreditava nesta hipótese e experimentos subse-

MUTAÇÕES INDUZIDAS

qüentes usando o elemento químico rádio e raios X pareciam não produzir mutações. Foram os trabalhos de Muller que, posteriormente, demonstraram a capacidade mutagênica dos raios X. Morgan (1914b) também levantou a possibilidade da eterminização das moscas causar mutações, mas não pôde demonstrar se isso realmente ocorria.

E. B. Lewis (comunicação pessoal) acredita que seja pouco provável que os mutantes encontrados na “Sala das Moscas” tenham sido induzidos por radiação. Uma das razões para isto é que as dosagens de radiação usadas por Morgan eram muito baixas. Lewis suspeita que a causa da taxa elevada de mutações tenha sido a disgenesia do híbrido¹ decorrente de numerosos cruzamentos entre diferentes linhagens de *D. melanogaster* coletadas no campo. Se essa hipótese for verdadeira, significa que o advento da genética de *Drosophila* foi um evento pouco provável. Se Morgan tivesse usado somente uma linhagem, quer de Lutz, Castle, Payne ou que ele próprio tivesse coletado, a disgenesia do híbrido não teria ocorrido e o fervilhar de mutantes não teria sido observado.

Logo após o primeiro macho de olho branco ter sido descoberto, outros alelos mutantes apareceram. Em poucos anos o número chegou a 85. Isto se deveu, em grande parte, à extraordinária habilidade de Calvin Bridges para detectar variações entre indivíduos com anomalias e o tipo selvagem. Na verdade, todos na “Sala das Moscas” tinham uma grande habilidade em descobrir novos alelos mutantes. Mesmo Sturtevant, apesar de daltônico, detectou muitos desses alelos. Um número enorme de moscas foi analisado e foi, muito provavelmente, a dedicação, o enfoque e a disciplina desses pesquisadores da “Sala das Moscas”, a maior razão para que tanto tenha sido descoberto em tão pouco tempo.

Convém lembrar que as mutações somáticas não são hereditárias e apenas aquelas que ocorrem na linhagem germinal é que podem ser transmitidas às gerações subsequentes. Portanto, as mutações somáticas são aquelas que ocorrem em qualquer célula que não aquelas que irão originar gametas.

¹ Disgenesia do híbrido é um fenômeno que ocorre quando fêmeas de *Drosophila melanogaster* de linhagens de laboratório são cruzadas com machos provenientes de certas populações naturais. A progênie apresenta uma série de defeitos, incluindo esterilidade, devido à segregação distorcida na meiose (desvio meiótico), mutação e quebras cromossômicas.

A natureza e as causas do processo de mutação despertaram o interesse não só dos geneticistas mas também dos evolucionistas. Seriam as mudanças herdáveis estudadas na “Sala das Moscas” a base da variabilidade necessária à evolução darwiniana?

A princípio, ninguém imaginava que as mudanças genéticas pudessem ser de tamanha magnitude a ponto de serem reveladas por meio de investigações citológicas dos cromossomos. Mas, se a natureza física da mudança parecia não poder ser detectada, possivelmente, o processo da mutação em si pudesse ser estudado. Isto se tornaria plausível se as mutações pudessem ser produzidas experimentalmente.

As evidências genéticas indicavam que mutação era um fenômeno raro. Muller, por exemplo, estimou que em *D. melanogaster* qualquer gene particular teria uma taxa de mutação da ordem de 1×10^{-6} ; ou seja, em uma amostra de 1 milhão de gametas seria esperado um portador de uma mutação nova em um gene particular. Foi verificado também que: a taxa de mutação variava para diferentes genes; a mutação podia ocorrer em qualquer etapa da vida do organismo; a maioria dos alelos mutantes era recessiva; mutações com efeitos letais ocorriam com muito mais frequência do que mutações com efeitos visíveis; um mesmo gene podia sofrer mais de um tipo de mutação, originando séries de alelos múltiplos que afetavam um mesmo caráter em graus variados; podiam ocorrer mutações reversas, ou seja, um alelo mutante mutar novamente restabelecendo a condição selvagem. A ocorrência de mutação reversa mostrou de forma clara e definitiva que a mutação era uma alteração no gene e não uma simples perda do gene. Com isso foi sepultada a chamada “hipótese da presença ou ausência”, proposta no início do século para explicar as relações entre os estados de caráter mendelianos. Segundo essa hipótese, um dos estados do caráter seria condicionado por um determinado fator e o outro, pela ausência do fator.

Inicialmente, nenhum dos experimentos para induzir modificações genéticas foi conclusivo, uma vez que não se distinguiam as mutações induzidas das espontâneas e o planejamento dos experimentos era inadequado. As mutações que apare-

ciam em estoques não expostos aos agentes mutagênicos, para as quais não se podia correlacionar nenhuma causa conhecida, eram chamadas **mutações espontâneas**. E embora elas fossem raras, também o eram as mutações obtidas por meio de experimentos onde indutores físicos ou químicos eram utilizados. Sendo assim, ao expor-se, por exemplo, *D. melanogaster* ao elemento rádio, e se observar o aparecimento de um mutante em F_1 , F_2 ou em gerações posteriores, não se podia estar seguro quanto a origem espontânea ou induzida da mutação.

Uma vez que o aparecimento de novos alelos mutantes era pouco freqüente e praticamente todos eram recessivos, havia um problema em detectá-los. Assuma, por exemplo, que um gene autossômico no núcleo de um espermatozóide sofra uma mutação. Se este espermatozóide fecundar um óvulo – um evento muito pouco provável por si só – o novo indivíduo terá um alelo mutado proveniente do pai e um normal, dominante, proveniente da mãe. Ao observar-se a prole, não será possível detectar o indivíduo que carrega o novo alelo mutante, pois este estará em heterozigose.

Por meio de cruzamentos apropriados pode-se produzir homozigotos para o alelo mutante, mas para isto é necessário que se seja capaz de identificar o heterozigoto original. Como isso não é possível saber, a alternativa seria realizar inúmeros cruzamentos na esperança de que um deles incluísse o indivíduo heterozigótico. Este procedimento é impraticável para aqueles interessados em obter dados quantitativos na produção de mutantes.

H. J. Muller foi a primeira pessoa a dar uma solução prática a esse problema. Ele propôs, em 1927, um experimento engenhoso que permitiu comparar, de maneira simples e acurada, a taxa de mutação espontânea com a taxa de mutação induzida por exposição aos raios X.

Muller só pôde elaborar seu famoso experimento de quantificação de mutação induzida, que lhe rendeu o prêmio Nobel para Medicina e Fisiologia em 1946, a partir do conhecimento que se tinha na época sobre genes letais e sobre o efeito inibidor de recombinação gênica exercido pelas inversões cromossômicas.

GENES LETAIS

Em 1912, Morgan descobriu que um de seus estoques de moscas selvagens estava apresen-

tando um comportamento peculiar “... *algumas fêmeas estavam produzindo duas fêmeas para um macho, enquanto que outras fêmeas produziam números iguais dos dois sexos.*”

Morgan imediatamente suspeitou que o distúrbio na proporção sexual tinha algo a ver com o cromossomo **X**. Diz ele: “*Se o sexo é determinado por um fator nos cromossomos sexuais parece provável que alguma alteração tenha ocorrido nesse cromossomo.*”

Com o objetivo de testar essa hipótese, Morgan cruzou fêmeas daquele estoque com machos *white*. O resultado obtido foi apresentado nos seguintes termos: “*Algumas das fêmeas F_1 deram uma proporção 2:1. Quando estas fêmeas foram cruzadas com machos white, novamente obteve-se os seguintes resultados:*

*448 fêmeas selvagens
2 machos selvagens
445 fêmeas white
374 machos white.*”

A análise de Morgan foi brilhante. Ele assumiu, a partir de seu modelo sobre herança ligada ao sexo em *D. melanogaster*, que uma classe de machos selvagens era esperada e sua ausência, portanto, só poderia ser explicada pela existência de um fator no cromossomo **X** que impedisse a sobrevivência das moscas que portassem este fator. Mas se tal fator existisse, como explicar o aparecimento dos dois machos selvagens na progênie? (Fig. 41)

Morgan explicou estes resultados sugerindo a existência de algum tipo de fator letal recessivo em um dos cromossomos sexuais das fêmeas produtoras de 2 fêmeas para 1 macho. Se na meiose da fêmea heterozigótica para *white* e para o letal, ocasionalmente, o fator letal se separasse do alelo selvagem do gene *white*, por meio de uma permutação, o cromossomo **X** recombinante selvagem originaria um macho normal. E mais, de acordo com sua hipótese da ordenação linear dos fatores nos cromossomos, o suposto fator letal deveria estar próximo do loco *white*, já que ele se separava do alelo selvagem do *white* uma vez em cada 200 vezes.

Morgan fez uma dedução a partir dessa sua hipótese: se o gene letal estivesse realmente tão próximo do gene *white*, a freqüência de permutação entre ele e o gene *miniature* deveria ser semelhante à freqüência de permutação entre *minia-*

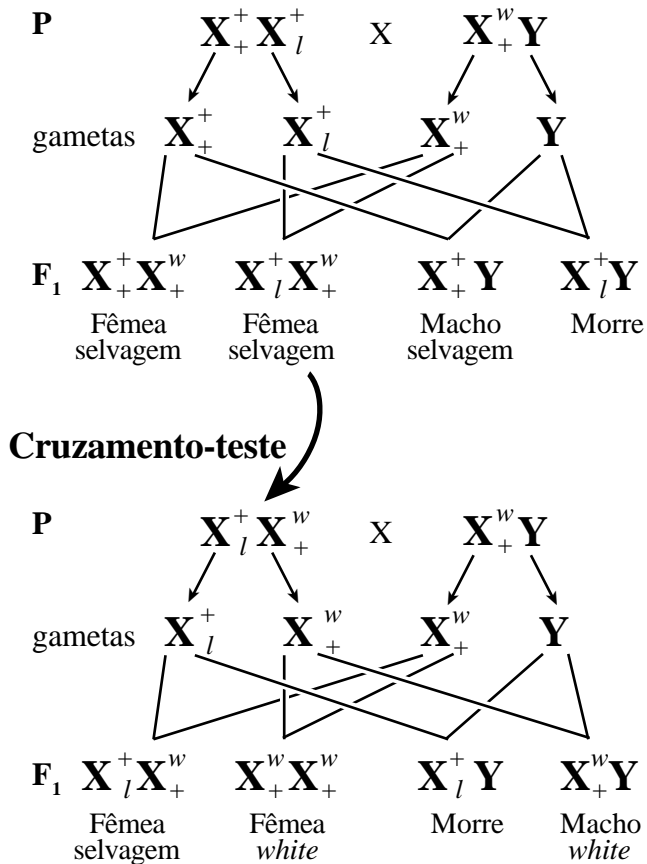


Figura 41. Representação esquemática do experimento de Morgan (1912) sobre o alelo letal ligado ao cromossomo X em *Drosophila melanogaster*.

ture e white. Diz ele: “Em resumo, nós previmos a proporção de machos com asas longas e asas miniaturas esperados nos retrocruzamentos, i.e., quantos machos de asas longas iriam escapar da dose fatal. A previsão foi confirmada.”

E. A. Carlson, em seu livro “*THE GENE: A Critical History*”, considera que a capacidade de localizar um mutante apenas pela ausência da progênie que deveria contê-lo e de restringir a localização desse gene a uma região conhecida de um dado cromossomo foi um feito mais extraordinário do que a própria hipótese da permutação. A proporção entre as classes de F₂ nestes cruzamentos era inexplicável com base em qualquer das hipóteses de Bateson. Na verdade, dez anos antes, o próprio Bateson havia previsto a existência de genes letais com base nas análises da alcaptonúria e do albinismo realizadas por Garrod, mas sua concepção da teoria genética impediu que ele próprio fizesse a descoberta desses fatores.

SISTEMAS DE LETAIS BALANCEADOS

Em 1917, Muller apresentou uma sensacional análise da mutação *Beaded* que serviu para quatro

propósitos principais: **a)** revelou o mistério de um fator “inconstante”, as asas *beaded*; **b)** provou a existência da “hereditariedade residual” que causa variação de caráter; **c)** explicou as “mutações” obtidas por De Vries em *O. glazioviana*; **d)** introduziu um novo conceito para “híbridos permanentes”.

Beaded é uma mutação dominante que causa cortes curvos nas bordas das asas. Seus efeitos eram variáveis e podiam ser modificados por seleção. Quando uma mosca *Beaded* era cruzada com uma mosca normal não mais do que metade da progênie apresentava fenótipo *Beaded*. Após anos de seleção, foi isolada uma linhagem cuja progênie era quase 100% *Beaded*. Um poucas moscas não-*Beaded* apareciam irregularmente entre a descendência *Beaded*. Muller propôs que *Beaded* era uma mutação visível dominante, mas letal em homozigose. Ele sugeriu também que a variabilidade da expressão dessa mutação era devida a outros genes que ele realmente mapeou nos diversos cromossomos de *D. melanogaster*.

Finalmente, ele lançou a hipótese de que a linhagem *Beaded* estável era resultante da presença de outro gene com um alelo letal no cromossomo homólogo ao portador do alelo *Beaded*, o qual seria da mesma natureza do letal descrito por Morgan em 1912, um recessivo simples. A consequência desse estado era uma “letalidade balanceada” que matava qualquer uma das progênies homozigóticas mas permitia a sobrevivência dos heterozigóticos. (Fig. 42)

Os sobreviventes com asas normais seriam resultado de permutações entre os dois genes letais (nesse sentido, eles seriam como os machos selvagens que escapavam da morte no experimento de Morgan, por serem produtos da permutação entre o gene letal e o *white*). Muller diz o seguinte a esse respeito: “Esta extraordinária condição genética, em que ambos os homozigóticos não aparecem devido a ação de fatores letais em cromossomos opostos [homólogos] pode ser chamada condição de fatores “letais balanceados”.

Se as plantas de De Vries (*Oenothera glazioviana*) fossem igualmente letais balanceados, elas produziriam recombinantes com características recessivas mantidas em heterozigose por inúmeras gerações. Essas novas características apareceriam na população em frequências muito mais altas do que as mutações simples encontradas na mosca

D. melanogaster. Portanto, os “mutantes” descritos por De Vries não seriam resultado de novas mutações, mas sim de permutações raras entre grupos de alelos normalmente mantidos em heterozigose.

INVERSÕES CROMOSSÔMICAS E A SUPRESSÃO DA RECOMBINAÇÃO GÊNICA

Por volta de 1915, observou-se que alguns estoques de *Drosophila melanogaster* apresentavam uma taxa muito pequena de recombinação entre determinados locos. Este fato chamou a atenção dos pesquisadores da época, uma vez que a porcentagem de ocorrência de recombinantes se constituía em um dado fundamental para a localização de locos gênicos. A causa para a redução da recombinação, embora não fosse conhecida, era herdada e sendo assim poderia ser estudada. Imaginou-se a existência de um “fator redutor de recombinação” que seria herdado como um gene mendeliano simples. Este suposto fator estava localizado na região do mapa cuja recombinação ele afetava. Além disso, o suposto fator se expressava apenas na condição heterozigótica.

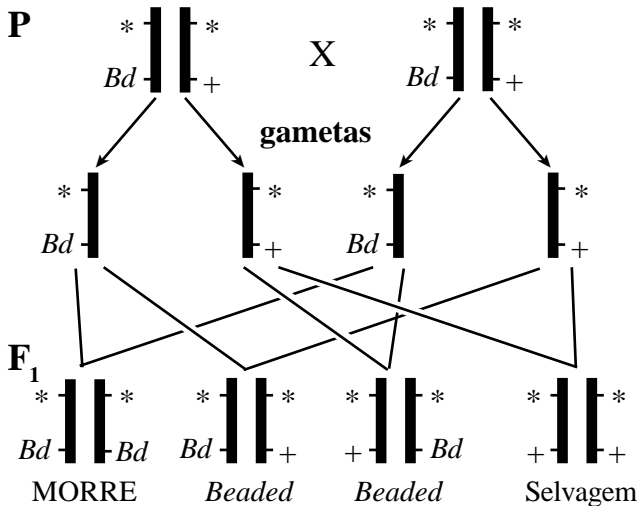
Em 1926, Sturtevant publicou os resultados obtidos com moscas portadoras de um destes fatores que suprimia a recombinação entre genes localizados no braço direito do cromossomo III (fator *CIII*). Por meio de cruzamentos bem planejados, ele conseguiu determinar que a ordem de quatro dos genes presentes na região cromossômica onde a recombinação era suprimida não era a mesma que a do mapa gênico daquele cromossomo. Enquanto nas linhagens normais a ordem dos genes era *ABCD*, na linhagem portadora do “fator *CIII*” a ordem desses mesmos genes era *ACBD*.

Sturtevant concluiu que este e, possivelmente, os demais fatores inibidores de recombinação eram **inversões** de regiões específicas dos cromossomos.

Suponha um conjunto de locos hipotéticos que normalmente ocorrem ao longo do cromossomo na ordem *abcdefg*; um cromossomo que apresente estes locos na ordem *abedcfg* contém uma inversão. As inversões são formadas quando um cromossomo sofre quebras em duas partes, neste caso entre *b* e *c* e entre *e* e *f*, seguidas de uma rotação de 180° do segmento central e posterior fusão com as pontas terminais, *b* e *f*, do cromossomo original.

Foi sugerido, então, que a recombinação era suprimida, porque durante a meiose os cromossomos não podiam se emparelhar na região onde um dos homólogos continesse a seqüência de locos normal e, o outro, a seqüência invertida. As observações de cromossomos invertidos na meiose de milho e, mais tarde, em células de drosófilas com cromos-

Herança do alelo *Beaded* em condição não-balanceada



Herança do alelo *Beaded* em condição balanceada

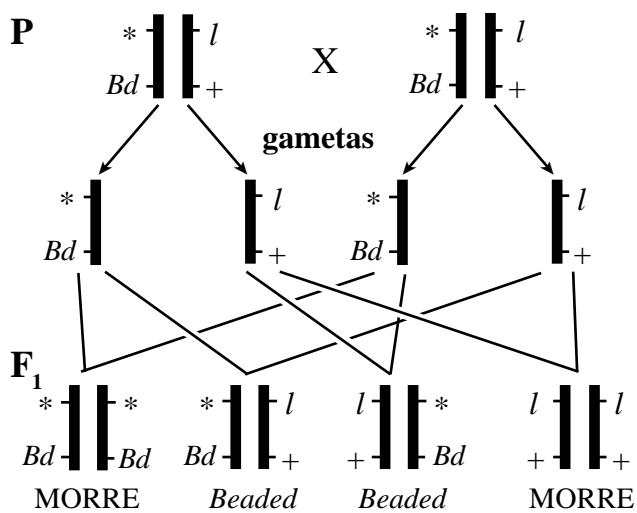


Figura 42. Herança do estado de caráter asas *Beaded* na condição letal não-balanceada e na condição letal balanceada. Homozigotos para o alelo *Beaded* não podem ser obtidos pois esse alelo é letal em homozigose. Uma homozigidade aparente ocorre quando um alelo letal de um outro gene, sem efeitos visíveis, está presente no cromossomo homólogo ao que contém o alelo *Beaded*. Isso ocorre porque ambas as progênies homozigóticas morrem; uma por ter o alelo *Beaded* em homozigose e a outra por ter o outro letal em homozigose. (* = alelo selvagem; l = alelo mutante letal recessivo).

somos politênicos mostraram, no entanto, que o emparelhamento cromossômico, em geral, ocorre e forma uma espécie de alça no bivalente.

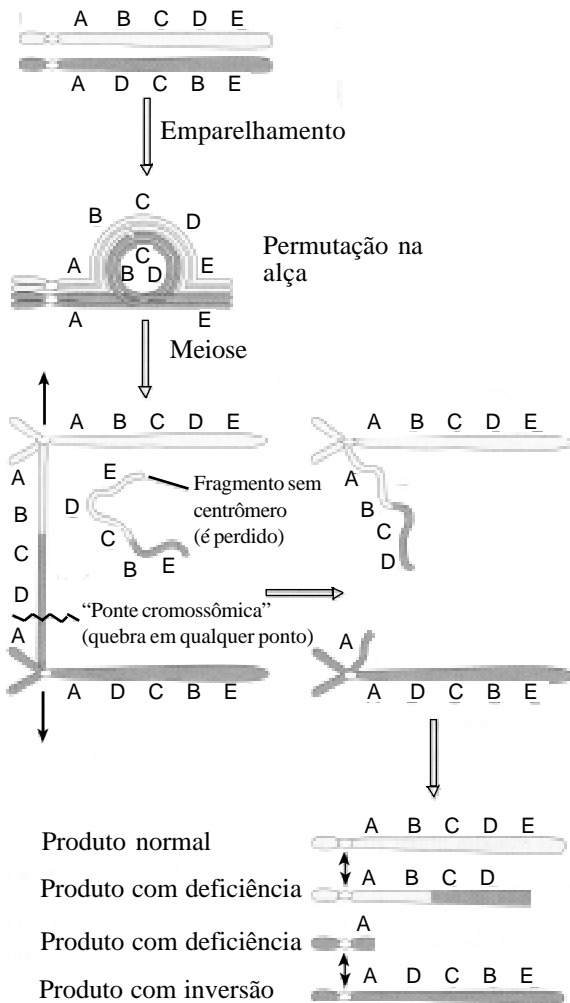
Nos segmentos invertidos emparelhados pode ocorrer permutação com formação de quiasmas e de cromátides recombinantes que terão constituições distintas se o centrômero estiver situado dentro ou fora do segmento invertido. (Fig.43)

a. Se a inversão não inclui o centrômero (**inversão paracentromérica**), a permutação originará uma cromátide sem centrômero e outra com dois centrômeros. A primeira não é puxada para os pólos onde se formam os núcleos-filhos; a

segunda fica unida aos dois pólos celulares, formando na anáfase I da meiose uma ponte cromatídica que termina por se romper. Isso faz com que os únicos produtos viáveis dessa meiose sejam as cromátides que não sofreram permutação dentro do segmento invertido.

b. Se a inversão inclui o centrômero (**inversão pericentromérica**), a permutação originará cromátides recombinantes com deficiência de alguns genes e com duplicação de outros. Os gametas que recebem estes cromossomos, em geral, não formam zigotos viáveis. Assim, não se formam recombinantes entre os genes contidos no segmento invertido.

Inversão paracentromérica em heterozigose



Inversão pericentromérica em heterozigose

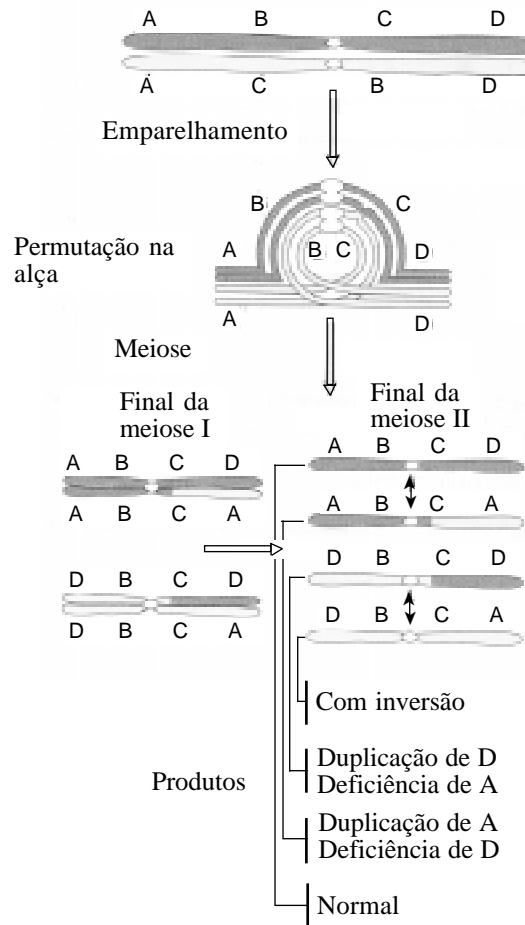


Figura 43. Permutações ímpares dentro da alça que se forma pelo emparelhamento entre cromossomos homólogos de indivíduos heterozigóticos para inversão paracentromérica (à direita) e para inversão pericentromérica (à esquerda). Como resultado da meiose formam-se dois cromossomos parentais e dois recombinantes cujos gametas resultantes são, em geral, inviáveis por possuírem deficiência ou duplicação de genes (extraído de Griffiths *et al.*, 2.000).

O MÉTODO *CIB* DE MULLER

A descoberta do sistema balanceado de genes letais e do efeito supressor de recombinação das inversões permitiu que Muller planejasse e construísse uma linhagem especial de drosófilas chamada *CIB*. Com essa linhagem ele podia medir a taxa de mutação para o estado letal de genes localizados no cromossomo X.

Uma fêmea *CIB* tem um dos seus cromossomos X portando uma grande inversão (*C*), um alelo recessivo letal (*l*) e o alelo dominante *bar* (*B*). Os loci *l* e *B* estão incluídos na região invertida *C*.

Muller estrategicamente escolheu os genes *l* e *B* incluídos na região invertida *C*, pois assim eles permaneceriam ligados (a inversão “impediria” que eles fossem separados por permutação).

O alelo dominante *B* serviria como um meio imediato de reconhecer as fêmeas heterozigóticas para o cromossomo *CIB*, pois é uma mutação dominante facilmente visível. As fêmeas portadoras de dois cromossomos *CIB* não seriam viáveis pois o alelo letal *l* entraria em homozigose levando-as à morte. Da mesma forma, os machos portadores do cromossomo *CIB* em hemizigose morreriam.

Quando uma fêmea heterozigótica para o cromossomo *CIB* é cruzada com um macho selvagem. A metade de suas filhas é selvagem e a outra metade tem os olhos *bar*, sendo, portanto, portadoras do cromossomo *CIB*. Os filhos que receberam o cromossomo *CIB* morrem por não possuírem o alelo dominante capaz de inativar o efeito do alelo letal *l*. A proporção sexual é, então, de 2 fêmeas para 1 macho.

Como mencionado anteriormente, na época em que Muller estava fazendo estes experimentos, era sabido que genes em locos diferentes podiam mutar e causar a morte e que estes genes letais eram quase sempre recessivos. Já que diferentes locos podem mutar para um estado letal, a chance de se obter uma mutação letal qualquer é bem maior do que a de se obter uma mutação em um loco específico. Assim, se estudarmos a taxa de mutação para uma condição letal do cromossomo X, estaremos estimando a soma das taxas para todos os locos que podem mutar de maneira a levar a prole de machos à morte. O número destes locos pode ser grande, mas não será conhecido.

O estoque *CIB* permitiu a Muller medir a frequência com que locos gênicos num cromosso-

mo *X* de uma fêmea qualquer de *D. melanogaster* poderia portar um alelo letal. A intenção de Muller era determinar a taxa espontânea deste tipo de mutação e, com esta informação, testar o efeito dos possíveis agentes mutagênicos (por exemplo, do raio X).

O método desenvolvido por Muller, esquematizado na figura 44, permite que seja estimada a frequência com que ocorre uma mudança para o estado letal, de qualquer um dos alelos do cromossomo X dos machos da geração parental; o *l* indica presença desta mutação.

Note que o X do macho será transmitido para suas filhas. Se uma das filhas receber um cromossomo *X* do pai com uma nova mutação letal, ela ficará com esse cromossomo e com o *CIB* recebido da mãe. Por que esta fêmea não morre, uma vez que ela possui um alelo letal em cada um dos seus cromossomos X? Neste caso, o gene letal recém-mutado não está no mesmo loco gênico, ou seja, não é alelo do gene letal presente no cromossomo *CIB* homólogo. Sendo assim, cada um dos alelos letais será inibido por um alelo normal presente no cromossomo homólogo. A confusão vem do fato de os dois alelos mutantes, embora em locos diferentes, receberem o mesmo nome “letal”.

Como mutação é um fenômeno raro, a maioria das fêmeas F_1 receberá cromossomos *X* normais de seus pais e, portanto, elas só possuirão o alelo letal do cromossomo *CIB*.

As fêmeas *CIB* da geração F_1 serão cruzadas com seus irmãos machos normais. Cada fêmea será, então, separada em um vidro de cultura individual para que sua descendência seja analisada.

Uma fêmea não portadora de mutação letal no cromossomo recebido do pai produzirá uma progênie constituída por 2 fêmeas para 1 macho. Metade das fêmeas será *Bar* (possuidoras do cromossomo *CIB*) e metade será selvagem; os machos serão todos selvagens, pois os que receberam o cromossomo *CIB* morreram.

Como é mostrado na parte inferior da figura 44, uma fêmea F_1 que tenha recebido um cromossomo *X* do pai com uma nova mutação letal produzirá apenas fêmeas na descendência: metade com fenótipo *Bar* (portadoras do cromossomo *CIB*) e a metade com fenótipo normal, embora sejam portadoras do novo letal. Não haverá machos. Metade deles morrerá por receber o cromossomo *CIB* e a outra metade por receber o cromossomo X portador da nova mutação letal.

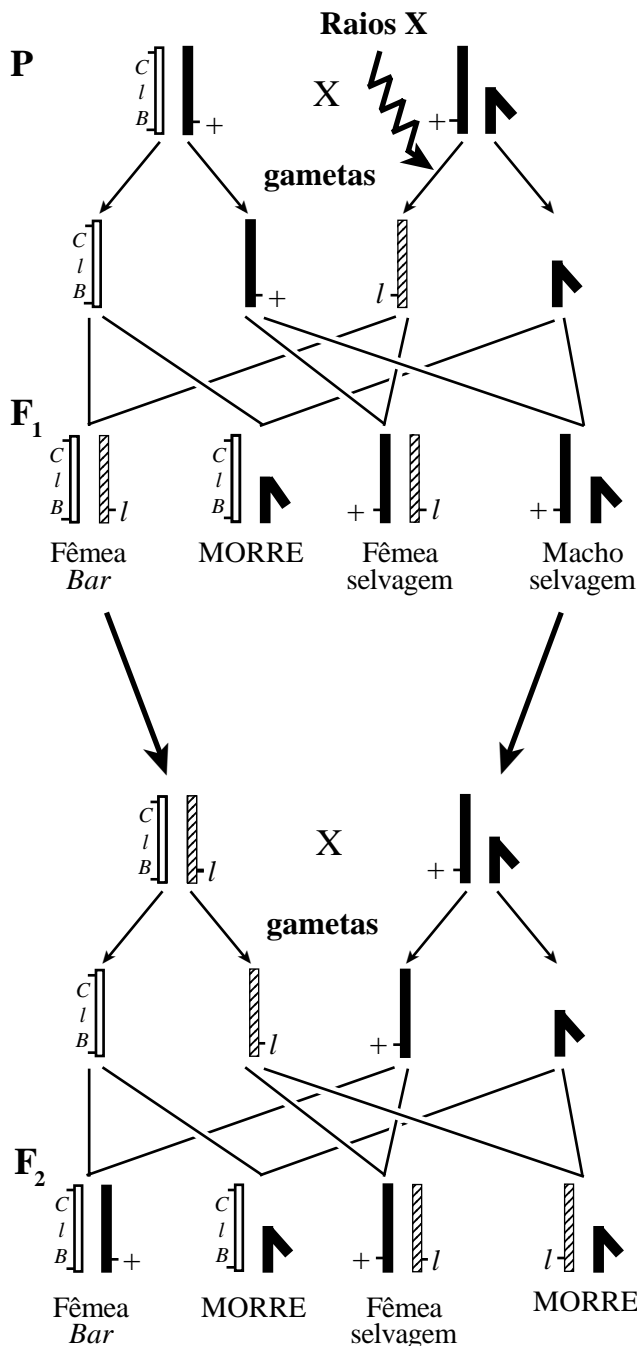


Figura 44. Representação esquemática do método **CIB** de Muller para detecção de mutações letais no cromossomo X de *Drosophila melanogaster*.

Embora *D. melanogaster* seja uma mosca pequena, é possível distinguir os machos das fêmeas a olho nu. Assim, Muller podia, com rapidez, verificar se seus tubos de cultura continham ou não machos. Foi, então, possível formular a questão: “Qual é a frequência com que qualquer loco no cromossomo X muta para um alelo letal?”

Como suspeitava-se que esta porcentagem era muito pequena, milhares de cruzamentos foram feitos. Muller observou que, aproximadamente,

uma fêmea F_1 em mil (0.1 por cento) apresentava apenas fêmeas na progênie. Esta era, portanto, a taxa espontânea de mutação letal. Vale lembrar, mais uma vez, que esta não é a taxa para apenas um gene, mas para todos os genes do cromossomo X que podem mutar para um estado letal.

Embora Morgan e outros pesquisadores tivessem concluído uma década antes que os raios X não induziam mutações, Muller observou que, na verdade, isto ocorria. Quando os machos eram expostos a, aproximadamente, 4000r de raios X, uma fêmea F_1 em 10 apresentava apenas fêmeas na progênie – portanto, uma taxa de mutação 100 vezes maior do que a taxa de mutação espontânea.

Muller demonstrou que os raios X podiam ser utilizados para induzir mutações – nem todas letais, é claro. De fato, foi observado que os raios X podiam induzir não apenas mutações gênicas mas também inversões, translocações ou deficiências (perda de um segmento do cromossomo).

Os cromossomos e genes de *D. melanogaster* poderiam a partir daí ser modificados de maneira a permitir que os geneticistas respondessem a várias questões antes impossíveis de serem respondidas.

Além da importância do dado e das conclusões obtidas, não se pode esquecer o fato de que o método **CIB** desenvolvido por Muller foi bastante engenhoso. Em muitos momentos, principalmente quando nas mãos de um pesquisador criativo, *D. melanogaster* pôde ser moldada segundo as necessidades dos experimentos. Ao construir o genoma das moscas **CIB**, Muller foi capaz de detectar a ocorrência de um fenômeno muito raro. Uma vez que ele já podia medir, com precisão, a taxa de mutação espontânea, ele pode determinar o efeito mutagênico de várias condições externas. Este foi o início de uma linha de pesquisa que é tão importante para nós hoje em dia - a detecção de radiações e substâncias químicas tóxicas capazes de induzir mutações.

MUTAÇÕES HOMEÓTICAS

Discos imaginários são aglomerados celulares presentes no corpo das larvas de insetos holometabólicos a partir das quais se desenvolvem (diferenciam-se) as estruturas do corpo do adulto, durante o estágio de pupa.

Uma mutação que faz com que, durante o desenvolvimento (metamorfose), uma determinada estrutura do corpo seja substituída por outra é

denominada **mutação homeótica**. Em outras palavras, mutações homeóticas são mutações que mudam o destino de um disco imaginal. A mutação *Antennapedia* em *Drosophila melanogaster*, por exemplo, transforma a determinação do disco imaginal de antena em disco imaginal de perna, o que resulta em uma imago (inseto adulto) que apresenta apêndices em forma de perna na região da cabeça onde, na ausência dessa mutação, normalmente se formaria uma antena. (Fig. 45)

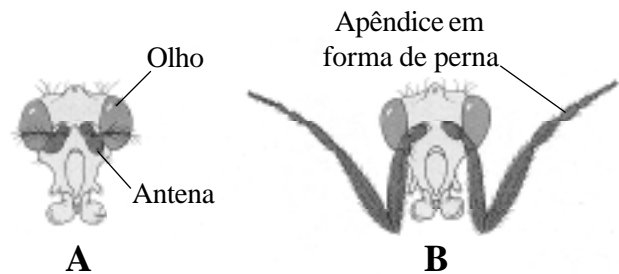


Figura 45. Esquemas da cabeça de adultos de *Drosophila melanogaster*, em vista anterior, mostrando o efeito da mutação homeótica *Antennapedia* no fenótipo. **A.** Imago com fenótipo selvagem: antenas normais. **B.** Imago portadora da mutação: a parte distal das antenas foi substituída por apêndices em forma de pernas (extraído de Gardner *et al.*, 1991).

EXERCÍCIOS

PARTE A: REVENDO CONCEITOS BÁSICOS

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

- (a) inversão cromossômica
- (b) inversão pericêntrica
- (c) inversão paracêntrica
- (d) fenocópia
- (e) mutação cromossômica
- (f) letalidade balanceada
- (g) agente mutagênico
- (h) gene letal
- (i) mutação reversa
- (j) mutação somática
- (k) mutação germinal
- (l) mutação homeótica

1. Dá-se o nome de () a qualquer alteração permanente na constituição cromossômica de um organismo.
2. Uma substância química ou um fator físico (por exemplo: raios X, luz ultra violeta etc.) capaz de alterar o material hereditário é chamado ().
3. Muller, em 1917, propôs a hipótese de () para explicar o fato de a linhagem *Beaded* ser estável apesar de ser portadora de uma mutação letal; segundo essa hipótese, as progêneses homocigóticas morriam restando apenas os indivíduos heterocigóticos.
4. Um rearranjo intracromossômico que resulta na rotação de 180° de um segmento cromossômico é chamado ().

5. () é aquele cujo efeito fenotípico é suficientemente drástico para matar seu portador.
6. Quando o centrômero está incluído em um segmento cromossômico invertido, fala-se em ().
7. Quando o centrômero está fora da região invertida, fala-se em ().
8. Uma alteração hereditária em um alelo mutante que restabelece a condição selvagem é denominada ().
9. Um fenótipo (não-hereditário) induzido pelo ambiente, que simula um fenótipo sabidamente produzido por uma mutação herdável é denominado ().
10. () é uma mutação que ocorre em células que não irão originar gametas, ou esporos.
11. () é uma mutação que ocorre em células que irão originar gametas, ou esporos.
12. Uma () é aquela que modifica o destino de um disco imaginal.

PARTE B: LIGANDO CONCEITOS E FATOS

Utilize as alternativas abaixo para responder as questões 13 e 14.

- (a). Bateson (c). Muller
 - (b). Morgan (d). Sturtevant
13. A demonstração de que raios X causam mutação foi feita por ().

14. A hipótese de que os “fatores redutores de permutação” eram inversões cromossômicas foi feita por ().

15. Inversões cromossômicas impedem recombinação porque

a. um cromossomo portador de inversão não consegue se emparelhar com seu homólogo normal.

b. indivíduos homocigóticos para cromossomos portadores de inversão são inviáveis.

c. permutação entre cromossomos portadores de inversão geram genes letais.

d. uma permutação, dentro da região invertida, entre um cromossomo portador de inversão e seu homólogo normal origina cromossomos recombinantes inviáveis.

16. Com relação ao cromossomo *CIB*, construído por Muller, pode-se dizer que

a. machos portadores desse cromossomo são viáveis.

b. fêmeas diplóides portadoras de um par desses cromossomos são inviáveis.

c. trata-se de um tipo especial de autossomo.

d. trata-se de um cromossomo Y especial.

17. O método *CIB* de Muller permite estimar a frequência com que ocorre (m)

a. uma mutação recessiva no cromossomo X.

b. mutações recessivas no cromossomo X.

c. uma mutação letal recessiva no cromossomo X.

d. mutações letais recessivas no cromossomo X.

Utilize as alternativas abaixo para responder as questões 18 e 19.

a. cada um dos cromossomos recombinantes apresenta dois centrômeros.

b. nenhum dos cromossomos recombinantes apresenta centrômero.

c. um dos cromossomos recombinantes apresenta dois centrômeros e o outro, nenhum.

d. os cromossomos recombinantes, apesar de apresentarem centrômeros normais, têm deficiência ou duplicação de genes.

18. A ocorrência de uma permutação na região invertida em indivíduos heterocigóticos para uma inversão cromossômica paracentromérica não produz recombinantes porque ().

19. A ocorrência de uma permutação na região invertida em indivíduos heterocigóticos para uma inversão cromossômica pericentromérica não produz recombinantes porque ().

PARTE C: QUESTÕES PARA PENSAR E DISCUTIR

20. Por que a descoberta de mutações reversas derrubou a “hipótese da presença ou ausência”?

21. Por que Morgan concluiu que o suposto fator letal, descrito em seu trabalho de 1912, estaria próximo ao loco gênico *white*?

22. Por que era impossível obter uma linhagem *Beaded* “pura”?

23. Como Muller explicou o aparecimento de uma linhagem *Beaded* que apenas esporadicamente produzia descendentes selvagens?

24. Que tipo de estratégia é usada para se manter uma linhagem *CIB* em laboratório?

25. Qual o procedimento usado para se medir a taxa de mutação letal por meio do sistema *CIB*?

26. *Drosófilas* aparentemente normais foram cruzadas entre si, na descendência de um dos casais obteve-se: 202 fêmeas e 98 machos. Proponha uma explicação genética para este resultado. Proponha um teste para a sua hipótese.

27. Em uma grande maternidade, de 100 mil crianças nascidas, 10 eram portadoras de acondroplasia; uma anomalia autossômica dominante, com penetrância completa. Destas 10 crianças somente 2 tinham um dos pais afetados. Com base nessas informações estime a frequência de mutação para acondroplasia nos gametas.

28. Suponha uma petúnia heterocigótica, com a seguinte distribuição de genes em um par de cromossomos homólogos $A^*BCDEFGHI / a^*bcdhgfei$ ($*$ representa o centrômero).

a) Esquematize o emparelhamento desse par de cromossomos na prófase I da meiose. Identifique as partes do seu diagrama.

b) Identifique as cromátides de um cromossomo como 1 e 2 e as cromátides de seu homólogo como 3 e 4. Considere a ocorrência de uma permutação entre os locos G e H das cromátides 2 e 3 e faça o esquema dos resultados destas permutações na anáfase I. Quais os genótipos dos gametas, resultantes desta meiose, que dariam origem a descendentes viáveis?