

# Mais sobre a natureza molecular dos fatores mendelianos



Tiago Alves Jorge de Souza<sup>1</sup> e Tiago Campos Pereira<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP.

<sup>2</sup> Departamento de Biologia, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP.

Autor para correspondência: [tiagocampospereira@ffclrp.usp.br](mailto:tiagocampospereira@ffclrp.usp.br)



Os estudos de Mendel continuam sendo relevantes para o ensino da Genética na atualidade, apesar de terem sido publicados há um século e meio. O advento da Biologia Molecular tem permitido um avanço nas análises das variações moleculares associadas aos sete caracteres estudados por Mendel em ervilha. No entanto, ainda não se sabe ao certo quais são exatamente os genes associados a algumas dessas características. Dos sete caracteres, a cor e a forma da semente são usualmente os mais abordados e utilizados para exemplificar os conceitos de hereditariedade. Os genes envolvidos nesses caracteres já foram clonados, sequenciados e relativamente bem descritos. No presente artigo abordamos os loci dos outros cinco caracteres originalmente estudados por Mendel, dando especial ênfase à natureza molecular e à função dos genes relacionados a eles.

Os experimentos do monge Gregor Mendel, que tiveram início em 1856 e foram publicados apenas em 1866, trataram de sete **caracteres** qualitativos em ervilha (*Pisum sativum*) (Figura 1) e acabaram por revolucionar a compreensão da hereditariedade. Apesar de se tratar de um estudo realizado há 150 anos, os seus resultados continuam sendo válidos para introduzir conceitos básicos de Genética. Obviamente, ao realizar os seus experimentos, Mendel não tinha conhecimento sobre

**Caráter** é um atributo fenotípico observável de um organismo; o mesmo que “característica” ou “traço”.

**Gene** é a unidade física fundamental da hereditariedade. Uma sequência de ácido nucleico que codifica um único RNA funcional ou um único polipeptídeo.

**Lócus** é o sítio ou local no cromossomo onde um determinado gene está localizado.

**gene**, meiose ou mesmo DNA. Ele utilizou letras para representar os **fatores** e os estados de dominância ou recessividade associados à variação fenotípica dos caracteres.

**Fator** é a unidade hereditária proposta por Mendel. De acordo com ele, um indivíduo apresentaria dois fatores para cada uma de suas características (cor da semente, cor da flor, rugosidade da semente etc). Um dos fatores teria sido herdado do pai e, o outro, da mãe. Na nomenclatura moderna, os fatores de Mendel correspondem aos alelos.

Posteriormente, White (1917) representou esses fatores com símbolos que são utilizados ainda hoje para se referir ao **lócus** gênico relacionado a esses caracteres: *A* (para cor da flor); *LE* (comprimento do caule); *I* (cor do cotilédone); *R* (forma da semente) *GP* (cor da vagem); *V* (forma das vagens) e *FA* (posição das flores).

Mais recentemente, com o advento da Biologia Molecular, tornou-se possível estudar mais profundamente os genes envolvidos nos caracteres analisados por Mendel (REID; ROSS, 2011). No entanto, até o momento, apenas quatro caracteres possuem seus genes e respectivas funções plenamente descritos. Para outros dois caracteres há apenas genes candidatos (Tabela 1).

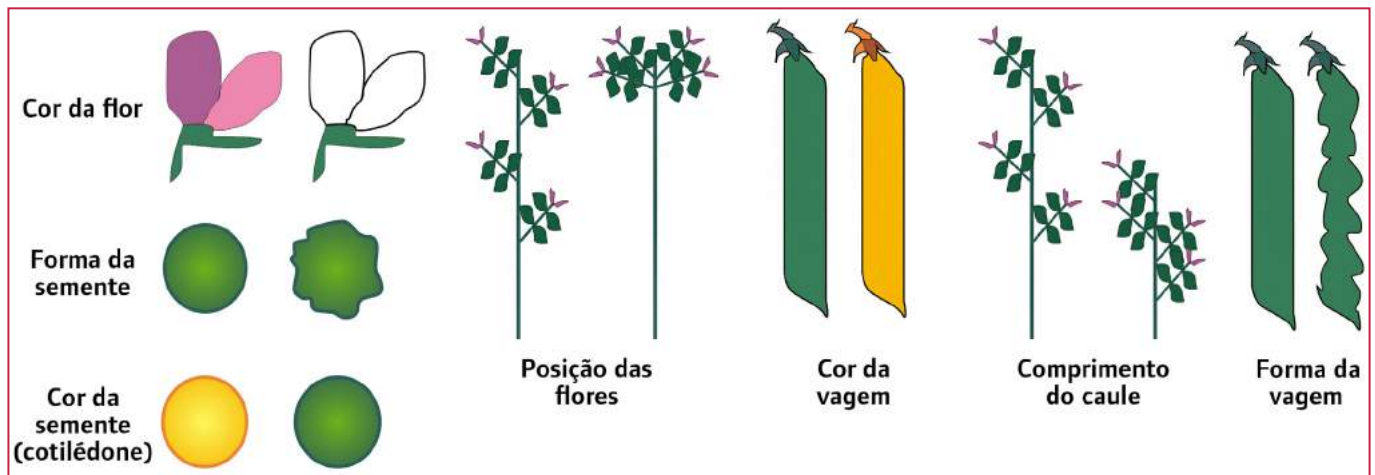
**Lócus LE** - Antes da era da Genética Molecular e Genômica, a identificação dos genes geralmente era feita por “Genética Direta” (*Forward Genetics*): observação de um fenótipo mutante, seguida por análises de cruzamento (estudos de ligação) para se identificar o lócus (região do cromossomo) associado àquele fenótipo. A identificação do lócus não implicava automaticamente em se conhecer o gene, principalmente naquela época, em que os genomas não eram sequenciados. O lócus era apenas uma região do cromossomo (por exemplo: cromossomo 3, braço longo, região 23). A identificação de genes só pode ocorrer após o sequenciamento molecular do lócus gênico (e estudos funcionais). Historicamente, deu-se o nome de LE ao lócus do gene que estaria associado ao “comprimento do caule”. *LE* é o nome do lócus, o nome do gene é Giberilina 3-oxidase (*GA3ox*).

Os caracteres mais amplamente discutidos e utilizados para exemplificar as leis de Mendel são a cor e a forma da semente. No entanto, apesar de pouco estudados, os outros cinco caracteres foram igualmente importantes nas análises com mono e diíbridos, para a postulação dos conceitos básicos da **1ª e 2ª leis mendelianas**. Dessa forma, neste artigo nos propomos a abordar, de forma sucinta, o que se sabe atualmente acerca da função e da identidade dos genes associados a esses cinco caracteres (extensivamente revisto em ELLIS *et al.* 2011; REID; ROSS, 2011).

**Leis Mendelianas:** conjunto de princípios sobre a hereditariedade que foram identificados por Mendel em seus estudos. A primeira lei de Mendel afirma que os dois alelos de um par segregam-se durante a formação dos gametas. A segunda lei afirma que os alelos de dois genes distintos segregam-se de maneira independente durante a formação dos gametas.

## 1. COMPRIMENTO DO CAULE

Sabe-se que existem vários genes relacionados à produção de hormônios de crescimento em plantas. As descrições da variação no comprimento do caule entre as linhagens puras (dominantes e recessivas) realizadas por Mendel, aliada às variedades de ervilhas disponíveis naquela época, fornecem indícios suficientes para sugerir que o **lócus LE** é o responsável por este caráter (DAVIDSON, *et al.* 2003; WHITE, 1917).



**Figura 1.**

Os sete caracteres estudados por Mendel. As naturezas moleculares de cinco características (cor da flor, posição das flores, cor da vagem, comprimento do caule e forma da vagem) são apresentadas no texto. A forma e cor da semente são descritos nos artigos das páginas 392 e 386 deste número da Genética na Escola.

**Clonagem:** uma série de procedimentos de Biologia Molecular que resulta na obtenção de uma sequência genética (por exemplo, um gene) isolado e inserido dentro de um vetor (por exemplo, um plasmídeo).

No entanto, a real função e identidade do gene associado a este caráter ficou envolta em mistério até 1980, quando ficou claro que ele estava relacionado com o nível de regulação da giberelina bioativa  $GA_1$ . Após uma análise molecular detalhada desse locus (sequenciamento aliado a estudos funcionais) foi identificado o gene  $GA3ox$  codificador da enzima Giberilina 3-oxidase (anteriormente denominada  $\beta$ -hidroxilase, responsável por converter o precursor inativo  $GA_{20}$  em  $GA_1$ ), essencial para a síntese de giberelinas.

Após a **clonagem** e sequenciamento desse gene, foi possível identificar e caracterizar alguns mutantes (*le-1*, *le-2*, *le-3*). Esses mutantes são deficientes na produção da enzima e apresentam níveis de giberelina 10 vezes menores do que o verificado nas plantas *LeLe* selvagens. Essa diferença foi especialmente evidenciada nas partes aéreas das plantas.

Devido à deficiência de produção da  $GA$  3-oxidase nas plantas *lele*, elas apresentam comprimento do caule menor do que as plantas selvagens (*LeLe*) e que as heterozigotas (*Lele*). É importante ressaltar que essa diferença de tamanho entre os caules desses dois genótipos se deve à diferença no comprimento da região dos internodos, não ao número de nós (ELLIS *et al.* 2011; REID; ROSS, 2011).

## 2. COR DAS FLORES

Mendel observou a existência de uma associação entre o revestimento da semente (tecnicamente denominada *testa*) e a coloração das flores de ervilheiras. Mais especificamente, ele notou que sementes com testas pig-

mentadas estavam associadas a flores roxas enquanto que as sementes claras ou despigmentadas estavam associadas a flores brancas. A relação entre esses fenótipos era um claro indício de pleiotropismo de um único gene que estaria localizado no locus *A*, mas não se sabe ao certo se Mendel notou isto.

Não só em ervilheiras, mas em vários vegetais, os compostos de antocianina são os responsáveis por conferir pigmentação vermelha, roxa ou azul às flores. Dessa forma, iniciou-se uma busca na região cromossômica correspondente ao locus *A* por genes relacionados à via de antocianina (ELLIS *et al.* 2011; REID; ROSS, 2011).

Apesar desta estratégia não ter sido bem sucedida, os pesquisadores encontraram outro gene (ainda no locus *A*) que poderia estar indiretamente associado à biossíntese de antocianina - o gene *bHLH* (*basic helix-loop-helix transcription factor*).

*bHLH* é um gene codificador de um fator de transcrição, um tipo de proteína que regula a expressão de diversos outros genes. Portanto, seria possível que *bHLH* estivesse regulando indiretamente os genes da via de biossíntese de antocianinas.

Posteriormente *bHLH* foi sequenciado e a confirmação de seu envolvimento na coloração das flores veio por meio de experimentos nos quais flores brancas foram revertidas em pigmentadas quando bombardeadas com o alelo *bHLH* selvagem. Portanto, o locus *A* está associado à ação de uma proteína de papel regulador da transcrição gênica (ELLIS *et al.* 2011; REID; ROSS, 2011).

**Tabela 1.**  
Descrição dos sete caracteres estudados por Mendel (Baseado em REID; ROSS, 2011).

I. Característica	II. Fenótipo dominante	III. Fenótipo recessivo	IV. Símbolo do locus	V. O gene já é conhecido?	VI. Genes candidatos	VII. Função gênica/ Processo biológico
Cor da vagem	Verde	Amarelo	<i>GP</i>	Não	<i>LCD1</i> (?)	Estrutura do cloroplasto na parede da vagem
Posição da flor	Axial	Terminal	<i>FA</i>	Não	<i>CLV1</i> (?)	Funcionamento do meristema
Forma da vagem	Inflada	Murcha	<i>V</i> (?)	Não	Não há	Formação de esclerênquima nas vagens
Comprimento do caule	Alto	Baixa	<i>LE</i>	<i>GA3ox</i>	-	Conversão do precursor inativo GA20 em GA1 (hormônio de crescimento)
Cor da flor	Roxa	Branca	<i>A</i>	<i>bHLH</i>	-	Fator de transcrição (regulação de genes da via de biossíntese de antocianina)
<b>Forma da semente</b>	Lisa	Rugosa	<i>R</i>	<i>SBE-I</i>	-	Enzima de ramificação do amido - I
<b>Cor do cotilédone</b>	Amarela	Verde	<i>I</i>	<i>Stay-green</i>	-	Degradação da clorofila

### 3. COR DAS VAGENS

O locus GP está relacionado à cor verde das vagens na sua forma selvagem e à cor amarela na sua forma mutante (WHITE, 1917), porém ainda não foi sequenciado.

Atualmente, cogita-se que essa variação na coloração se deva a uma falha na formação de complexos de clorofila no tecido da vagem. A partir do conhecimento acumulado acerca do locus GP, da identificação de genes em outras espécies que regulam o desenvolvimento do cloroplasto e da possibilidade de conservação de **sintenia** entre os genomas de ervilha e *Medicago truncatula*, pode-se afirmar que a identificação do gene associado ao caráter estudado por Mendel (cor das vagens) deve aparecer em breve na literatura.

Foi verificado que na região do genoma de *M. truncatula* que é sintênica ao locus GP de ervilhas está localizado o gene *Me-dtr7g080590* que codifica uma proteína do lúmen do cloroplasto que tem grandes similaridades com o gene *LCD1* de *Arabidopsis thaliana*. Curiosamente, plantas de *A. thaliana*

com mutações no gene *LCD1* apresentam fenótipo pálido em condições normais de crescimento, o que é um indicativo de ausência de clorofila. Dessa forma, existe uma elevada chance desse gene ter sido indiretamente estudado por Mendel (ELLIS *et al.* 2011; REID; ROSS, 2011).

### 4. POSIÇÃO DAS FLORES

Mendel observou que as flores podiam ser axiais, estando presentes ao longo do caule ou terminais estando arranjadas em uma falsa umbela (ou guarda-chuva) na parte terminal do caule. Essa concentração de flores na extremidade do caule provavelmente se deve a falhas na organização celular do meristema apical da planta. Apesar do termo técnico utilizado para descrever essa característica seja fasciação, é importante ressaltar que ele não foi utilizado nos escritos originais de Mendel. No entanto, a contínua utilização desse termo para se referir a essa característica levou White (1917) a utilizar a sigla *Fa* para representar o locus relacionado a esse fenótipo.

**Sintenia** é a ocorrência de dois ou mais genes em um mesmo cromossomo. A “conservação de sintenia” se refere à observação da mesma sequência (ordem) de genes de determinado cromossomo preservada entre espécies evolutivamente distantes.

Em ervilhas existem alguns loci que são capazes de conferir este fenótipo fasciolado, sendo que os loci *Fa* e *Fas* são os dois principais candidatos. Estudos com *A. thaliana* têm ajudado a identificar genes candidatos para esses loci. Dentre eles se destacam o gene CLAVATA 3 (*CLV3*), codificador de pequenos peptídeos secretados e o gene CLAVATA 1 (*CLV1*), codificador de uma proteína transmembrânica receptora destes peptídeos, localizada no meristema apical.

Estas interações transmitem um sinal que mantém a população de células meristemáticas sob controle. Falhas na sinalização CLV promovem um acúmulo de células meristemáticas, como visto nos fenótipos fasciolados de *clv1* e *clv3*. Curiosamente, buscas em *Medicago sp.* por regiões sintênicas a *Fa* e a *Fas* identificaram sequências **homólogas** a *CLV1*, o que reforça a possibilidade de ter sido esse o gene indiretamente estudado por Mendel (ELLIS, *et al.* 2011).

**Homólogo:** que possui uma origem evolutiva comum. Portanto, sequências homólogas são sequências de DNA que possuem um ancestral comum, resultando em uma conservação parcial da sequência nucleotídica entre espécies diferentes.

## 5. FORMA DAS VAGENS

Os fenótipos inflado ou murcho das vagens se devem à presença ou à ausência de uma camada de revestimento de esclerênquima, respectivamente. Esse revestimento permite a manutenção da estrutura da parede das vagens infladas enquanto que sua ausência leva a vagem a se retrair em volta das sementes, resultando em um aspecto murcho. Ao menos dois loci podem estar associados a esta característica: o locus *P* e o locus *V* (localizados em cromossomos distintos).

Tanto as vagens ppVV quanto PPvv possuem faixas reduzidas de esclerênquima, ao passo que plantas duplo-mutantes ppvv não apresentam esta camada de esclerênquima. Todos esses genótipos geram o fenótipo murcho, em maior ou menor intensidade (ELLIS *et al.* 2011; REID; ROSS, 2011).

A partir das descrições de Mendel não é possível afirmar com exatidão qual foi a variante estudada por ele em seus experimentos (ppVV ou PPvv). No entanto, é assumido que ele analisou a variação do locus *V*, pois o fenótipo do mutante em relação a este locus se encaixa de forma mais adequada em suas descrições. Outra evidência nesse sentido reside no fato de que sementes com o genótipo

Pv eram as mais comumente encontradas na época de Mendel.

Dos sete caracteres estudados por ele, esse é o que foi descrito com a menor riqueza de detalhes, o que dificulta a determinação de genes candidatos para explicar tal caráter. No entanto, uma análise dos aspectos fisiológicos durante o desenvolvimento das vagens pode vir elucidar essa questão (ELLIS *et al.* 2011; REID; ROSS, 2011).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em 1866 o trabalho de Mendel foi publicado lançando os fundamentos da hereditariedade. Ao longo do século XX, um esforço conjunto e articulado entre diferentes áreas - evidências históricas, estudos fisiológicos, análises bioquímicas e mais recentemente dados moleculares - têm permitido identificar e caracterizar alguns dos genes responsáveis pelos caracteres originalmente estudados por ele.

No momento, o quebra-cabeça está parcialmente resolvido. As funções celulares/bioquímicas exatas de alguns destes genes já foram determinadas. Porém, ainda restam três caracteres cujas naturezas moleculares precisam ser entendidas. Estas informações irão não apenas enriquecer os detalhes da incrível história traçada por Mendel, mas também permitirão estabelecer novas relações genótipo-fenótipo com potencial impacto na agricultura.

## REFERÊNCIAS

- DAVIDSON, S. E.; ELLIOTT, R. C.; HELLIWELL, C. A.; POOLE, A. T.; REID, J. B. The pea gene NA encodes ent-kaurenoic acid oxidase. *Plant Physiology*, v. 131, p. 335-344, 2003.
- ELLIS, N. T. H.; HOFER, J.M.I., TIMMERMAN-VAUGHAN, G. M.; COYNE, C. J.; HELLENS, ROGER P. Mendel, 150 years on. *Trends in Plant Science*. v. 16, n. 11, p. 590-596, 2011.
- REID, J. B.; ROSS J. J. Mendel's Genes: Toward a Full Molecular Characterization *Genetics*, v. 189, n.1, p. 3-10, 2011.
- WHITE, O. E. Studies of Inheritance in *Pisum*. *Proceedings of American Philosophical Society*, v. 56, p. 487-588, 1917.