

Unidade 7 – Ligação e Recombinação

1. Introdução

Todos os organismos vivos possuem sequências polinucleotídicas que permitem a sua sobrevivência, capacidade de regeneração, duplicação e reprodução. O desenvolvimento desses mecanismos tem sua base nestas sequências, as quais chamam-se genes.

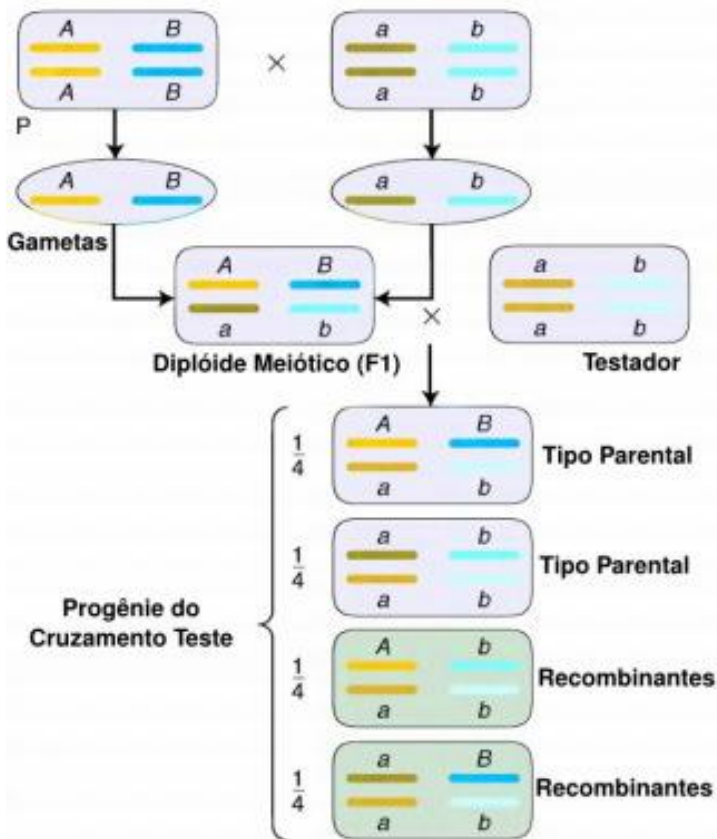
Nos organismos cujo cromossomo é único como no caso das bactérias e alguns vírus, todos os genes estão ligados, enquanto que nos indivíduos que possuem mais de um cromossomo os genes poderão estar ligados ou não.

Nos indivíduos diploides, como milho, soja, feijão, arroz, *Drosophila*, que possuem respectivamente 20, 40, 24, 22 e 4 cromossomos, muitos dos genes estão no mesmo cromossomo, assim como muitos estão em cromossomos separados.

Os estudos dos genes independentes iniciaram com os trabalhos de Mendel em ervilhas e feijão, enquanto que a ligação gênica foi descoberta por volta de 1903 por Sutton e mais tarde por Bateson e Punnett (1905). Mas, somente em 1910 que T. H. Morgan foi capaz de evidenciar a ligação em cromossomos de *Drosophila* (BURNS, 1984).

As conclusões do seu estudo demonstram irrefutavelmente que os genes que estão no mesmo cromossomo tendem a ser herdados juntos e que existe uma relação entre a frequência de recombinação e a distância que separam os genes. Os genes que estão em cromossomos separados seguem a segregação chamada de Mendeliana – Lei da segregação independente, para dois ou mais genes (Unidade 5).

O retrocruzamento do tipo cruzamento-teste, utilizado por Mendel para determinar a constituição genotípica dos indivíduos da geração F₁ demonstra que esse é classificado como heterozigoto originado de



Por ocasião da obtenção dos descendentes do cruzamento-teste a proporção fenotípica para genes independentes é de 1/4 : 1/4 : 1/4 : 1/4 (Figura 7.1). Entretanto esta proporção será alterada quando os genes estiverem ligados. Os genes ligados constituem o que denomina **grupo de ligação**. A quantidade de grupos de ligações é igual ao número haploide da espécie ou genoma, portanto se uma espécie qualquer possui $2n = 40$ cromossomos terá 20 grupos de ligações.

Figura 7.1 – Segregação independente dos genes. Observa-se que a proporção genotípica é igual no caso do retrocruzamento (Fonte: GARCIA e PASTINA, 2008).

Nos itens que se segue se verá como os genes estão dispostos nesses grupos de ligações, a identificação dos indivíduos paternos e

recombinantes, a frequência de recombinação e o uso dos mapas cromossômicos.

2. Segregação independente dos genes

A segregação independente dos genes foi estudada no capítulo do Mendelismo onde se verificou o comportamento fenotípico de dois genes que estavam em cromossomos independentes. Salienta-se, nesse momento, que a proporção de gametas é de 25% para cada tipo. Portanto, para melhor entendimento do estudo de genes ligados a teoria mendeliana deve estar bem fundamentada.

3. A ligação genética

Todas as espécies eucarióticas possuem mais genes do que cromossomos e, portanto, há muitos genes que estão dispostos no mesmo cromossomo. É o que se chama de **ligação genética**. Entretanto, esses genes nem sempre são herdados juntos. Dependendo da distância em que se encontram podem ser transmitidos juntos ou não. Se juntos a ligação é dita **completa**, o que é uma exceção. Na maioria dos casos os genes recombinam-se provocando naturalmente variabilidade dentro das espécies.

Como os genes estão dispostos nas cromátides-irmãs dos cromossomos homólogos, a distância entre eles vai determinar se possuem comportamento independente ou ligado.

Na prófase da meiose I ocorre o pareamento de cromossomos homólogos e a troca de partes entre as cromátides homólogas. Se todas as cromátides homólogas se recombinarem a proporção de cromátides não recombinadas e recombinadas será de 50%. Esse é o valor de exceção. Normalmente o que ocorre é uma recombinação entre algumas cromátides, de forma que as tétrades formadas possuem cromátides recombinadas e não recombinadas. Nesse caso, pela descendência obtida, pode-se verificar quando houve recombinação ou não (Figura 7.2).

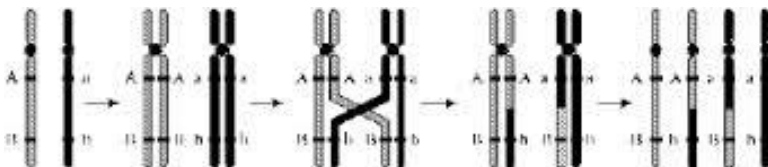


Figura 7.2 – Formação das tétrades a partir da duplicação dos cromossomos e da recombinação entre as cromátides homólogas (Fonte: www.biomania.com.br).

Quando ocorre a recombinação entre as cromátides, citologicamente se forma os **quiasmas**, que é a comprovação citogenética da permuta que ocorre nos cromossomos homólogos pareados. A figura 7.3 mostra duas recombinações entre os homólogos. A forma pela qual os genes estão dispostos nos cromossomos gerará variação nos gametas na geração F₂, por isso o entendimento da ligação é importante.

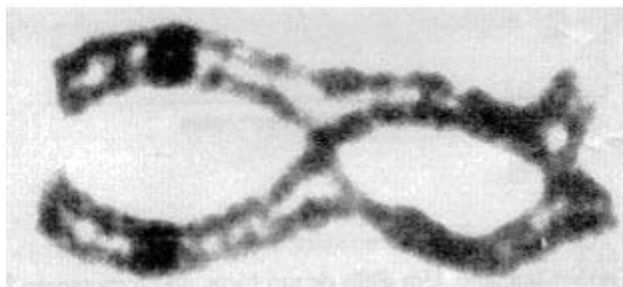


Figura 7.3 – Permuta e formação de 2 quiasmas entre cromossomos homólogos (Fonte: www.professor.bio.br/provas_vestibular.asp?origem=Unicamp).

4. Tipos e formas de ligações dos genes

A ligação poderá ser completa, quando não ocorre recombinação gênica e parcial, quando ocorre recombinação entre os genes. A forma pela qual os genes estão dispostos nos cromossomos será denominada **CIS** quando dois alelos dominantes estão numa cromátide e dois alelos recessivos estão na outra cromátide ou **TRANS** quando um alelo dominante e um alelo recessivo do outro gene estão numa cromátide e um alelo recessivo e um alelo dominante estão na mesma cromátide. A forma CIS pode ser chamada de associação e a TRANS de repulsão. Essa distribuição dos genes nos cromossomos homólogos pode ser vista na figura 7.4.



Figura 7.4 – Forma de ligação dos genes nos cromossomos – CIS e TRANS

5. Identificação dos paternais e dos recombinantes

Entende-se por paternais àquelas cromátides que na geração F_1 não se recombinaram entre si, enquanto que as demais se denominam recombinantes. Como descrito no item 3 nem todas as cromátides homólogas recombinam-se de forma que a frequência de recombinação sempre será menor do que 50%, sem exceção. Dessa forma, Morgan concluiu que os paternais estarão numa frequência superior a dos recombinantes e estabeleceu uma relação: **PATERNALIS > RECOMBINANTES**. Entretanto, quando se trata do estudo de três genes ligados é possível que haja duas permutas entre esses três genes, de forma que haverá ocorrência de paternais (cromátides que não se recombinaram), recombinantes simples e recombinantes duplos. Dessa forma, a relação anterior pode ser assim escrita: **paternais > recombinantes simples > recombinantes duplos**.

O cruzamento que detecta ligação gênica é o retrocruzamento, como já comentado. O retrocruzamento é o cruzamento entre os indivíduos da geração F_1 com o totalmente recessivo. É na formação das tétrades nos indivíduos F_1 's que ocorrerá a recombinação entre os genes. No cruzamento desses indivíduos com o duplo recessivo para dois genes é que serão observados os recombinantes e os paternais. Nos indivíduos duplos ou triplos recessivos ocorrerá também a recombinação. Todavia, nesses não será detectada a ligação, porque todos os genes em estudo estão na forma recessiva. Já no F_1 onde ambos os genes estão em heterozigose a recombinação aparecerá. O exemplo de ligação entre dois genes demonstrado a seguir esclarece isso.

5.1. Exemplo de ligações entre dois genes

Antes de entrar especificamente no exemplo de ligação gênica é necessário se entender como se reconhece genes ligados na grafia. Para diferenciar genes ligados (Morgan) dos independentes (Mendel) a forma de escrever os primeiros é: **AB/ab** ou **(AaBb)**. Os genes ligados poderão ser escritos na forma de fração ou entre parênteses. Hoje é sabido que ocorre alteração na frequência da prole do retrocruzamento quando os genes estão ligados. O exemplo a seguir demonstra a assertiva anterior que poderá ser confirmada através do teste do qui-quadrado (para estudo do qui-quadrado deve ser revisto a unidade 4).

Tabela 7.1 – Descendência do retrocruzamento em tomates tendo sido considerado a forma do fruto e o tipo da inflorescência.

Descendência do retrocruzamento*	Quantidade
Fruto redondo, inflorescência simples	23
Fruto redondo, inflorescência composta	85
Fruto alongado, inflorescência simples	83
Fruto alongado, inflorescência composta	19
Total	210

* Adaptado de Ramalho et al., 2008, p.179.

Para haver a comprovação de que o resultado desse retrocruzamento é devido a genes ligados, a aplicação do teste do qui-quadrado irá definir o tipo de relação dos genes, a partir de hipóteses pré-estabelecidas (Tabela 7.2).

O teste do qui-quadrado para relações genéticas trabalha com a hipótese de não haver ligação entre os genes ou então de que a ligação gênica ocorre entre esses genes. As hipóteses ficam assim definidas:

- H₀ – os genes não são ligados, ou os genes seguem a segunda Lei de Mendel;
- H_a – os genes estão ligados no mesmo cromossomo;

Tabela 7.2 – Aplicação do teste do qui-quadrado na descendência do retrocruzamento de genes em tomate.

Fenótipos	Observado (Fo)	Esperado (Fe)	Desvio	(Desvio) ²	(Desvio) ² /Fe
F. redondo, I. simples	23	52,5	-29,5	870,25	16,57
F. redondo, I. composta	85	52,5	32,5	1056,25	20,11
F. alongado, I simples	83	52,5	30,5	930,25	17,71
F. alongado, I composta	19	52,5	-33,5	1122,25	21,37
TOTAL	210	210	0		75,76

O valor do qui-quadrado calculado é superior ao valor do qui-quadrado na tabela. O valor da tabela considerando 0,01 e 3 graus de liberdade é de 11,34, portanto, bem inferior ao valor calculado de 75,76. Por isso, deve-se aceitar a hipótese dos genes serem ligados (H_a).

Utilizando estão à tabela 7.1, pode-se identificar na descendência quem são os paternos e quem são os recombinantes. Seguindo a regra de Morgan as plantas de frutos redondos e inflorescência composta (85) e frutos alongados e inflorescência simples (83) são paternos. Nesses não houve a recombinação entre as cromátides. Enquanto que nas plantas com frutos redondos e inflorescência simples (23) e com frutos alongados e inflorescência composta (19) são os indivíduos resultantes da recombinação entre as cromátides homólogas.

Considerando que o fenótipo redondo (O) dominante sobre alongado (o) e inflorescência simples (S) dominante sobre a composta (s), pode haver a identificação dos paternos, conforme a seguir:

- Paternal 1 (85) – fruto redondo, inflorescência composta – Os/Os
- Paternal 2 (83) – fruto alongado, inflorescência simples – oS/oS

Geração F₁ – fruto redondo, inflorescência simples – Os/oS

Percebe-se que os genes estão ligando na forma TRANS e os alelos “O e o”, “S e s” provém da geração F₁ heterozigota e formam o “numerador” e os alelos “o” e “s” provém do indivíduo duplo recessivo e formam o “denominador” da forma dos genes ligados.

Utilizando o quadro de Punnett o retrocruzamento em estudo ficaria assim constituído:

P ₁ Os/Os x oS/oS P ₂											
F ₁ Os/oS											
Retrocruzamento											
F ₁ Os/oS x os/os duplo recessivo	<table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th></th> <th>Os (P)</th> <th>oS (P)</th> <th>OS (R)</th> <th>os (R)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <th>os</th> <td>Os/os</td> <td>oS/os</td> <td>OS/os</td> <td>os/os</td> </tr> </tbody> </table>		Os (P)	oS (P)	OS (R)	os (R)	os	Os/os	oS/os	OS/os	os/os
	Os (P)	oS (P)	OS (R)	os (R)							
os	Os/os	oS/os	OS/os	os/os							

5.2. Cálculo da frequência de recombinação

O cálculo da frequência de recombinação pode ser feito usando a seguinte fórmula:

$$\%P = \frac{\sum \text{Recombinantes}}{\text{Total}} \times 100$$

Aplicando os dados da tabela 7.1 (somente os recombinantes) pode-se calcular a frequência de Permuta ou de Recombinação, conforme a seguir:

$$\%P = \frac{23 + 19}{210} \times 100 = 20\%$$

Esse valor de recombinação ou de permuta é igual à distância dos genes no grupo de ligação. Morgan determinou que a frequência de recombinação é diretamente proporcional a distância entre os genes. Da mesma forma, com esse valor de 20% é possível se construir o **mapa cromossômico**, conforme abaixo. A unidade da distância entre os genes é centiMorgan (cM) em homenagem ao seu descobridor.



Figura 7.5 – Mapa cromossômico considerando os dados da tabela 7.1.

Esse mapa de ligação entre os dois genes estudados serve também para se prever o comportamento fenotípico da geração F₂. Nesse caso a recombinação resultou em 20% entre os genes “o” e “s” que ocorreu na formação das tétrades na geração F₁. Se a geração F₂ é resultante do cruzamento entre dois F₁'s e se a frequência de recombinação é de 20%, qual será a frequência dos gametas, paternais e recombinantes, que ocorrerão na F₁?

Tem-se que considerar que se a recombinação é de 20% significa que cada gameta recombinante tem a frequência de 10% já que são dois (**OS** e **os**). O valor dos gametas paternais é a diferença para 100%, portanto, cada gameta terá a frequência de 40% (**Os** e **oS**). A tabela 7.3 demonstra isso:

Tabela 7.3 – Frequência da descendência da geração F₂ cuja distância entre os genes ou recombinação é de 20%.

	Paternais *		Recombinantes	
	Os (0,4)	oS (0,4)	OS (0,1)	os (0,1)
Os (0,4)	Os/Os (0,16)	Os/oS (0,16)	OS/Os (0,04)	os/Os (0,04)
oS (0,4)	Os/oS (0,16)	oS/oS (0,16)	OS/oS (0,04)	os/oS (0,04)
OS (0,1)	Os/OS (0,04)	OS/oS (0,04)	OS/OS (0,01)	os/OS (0,01)
os (0,1)	Os/os (0,04)	os/oS (0,04)	OS/os (0,01)	os/os (0,01)

* Adaptado de Ramalho et al., 2008, p. 183.

A quantidade de cada um dos fenótipos se for considerado uma população de 100 indivíduos pode ser assim especificada:

Tabela 7.4 – Quantidade de indivíduos a partir da geração F₂ considerando uma população de 100 indivíduos.

Fenótipos	Quantidade
Fruto redondo, inflorescência simples	51
Fruto redondo, inflorescência composta	24
Fruto alongado, inflorescência simples	24
Fruto alongado, inflorescência composta	1

5.3. Exemplo de ligação de três genes – Teste dos 3 pontos

O exemplo abaixo descrito caracteriza a ligação gênica entre três genes no mesmo bloco de ligação, em milho. O teste dos três pontos ou três genes é o que determina com mais confiança a frequência de recombinação e a distância entre os genes.

Tabela 7.5 – Genes ligados em milho e seus respectivos fenótipos.

Alelos recessivos*	Fenótipos	Alelos dominantes	Fenótipos
a	Virescente	A	Normal
b	Brilhante	B	Norma

c	Macho estéril	C	Normal
---	---------------	---	--------

* Adaptado de Ramalho et al., 2008, p. 191.

O teste dos três genes ligados envolve a mesma fórmula de cálculo de dois genes ligados. Porém, é acrescido de dois fenômenos que ocorrem – a **interferência** e a **coincidência**. Esses dois fenômenos serão visto no final desse item. Antes, porém, é necessário se observar a descendência do retrocruzamento em milho.

Tabela 7.6 – Descendência do retrocruzamento para três genes ligados, em milho.

	Fenótipos		Quantidade de plantas
Normal	Normal	Normal	235
Normal	Brilhante	Estéril	62
Normal	Normal	Estéril	40
Virescente	Normal	Estéril	4
Virescente	Brilhante	Estéril	270
Normal	Brilhante	Normal	7
Virescente	Brilhante	Normal	48
Virescente	Normal	Normal	60
Total			726

* Adaptado de Ramalho et al., 2008, p.191.

De posse dos dados da tabela acima a aplicação da fórmula de frequência de permuta fornecerá a distância entre os genes, além da quantidade de ligações entre esses genes.

a) **Cálculo da frequência entre os genes “a” e “b” (região I)**

$$\%P = \frac{62 + 4 + 7 + 60}{726} \times 100 = 18,31\%$$

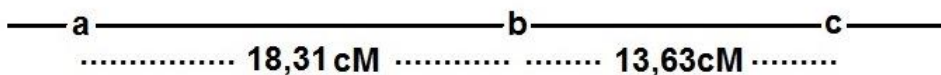
b) **Cálculo da frequência entre os genes “b” e “c” (região II)**

$$\%P = \frac{40 + 4 + 7 + 48}{726} \times 100 = 13,63\%$$

c) **Cálculo da frequência entre os genes “a” e “c” (região III)**

$$\%P = \frac{62 + 40 + 48 + 60}{726} \times 100 = 28,92\%$$

d) **Mapa de ligação a partir das frequências de permuta obtidas**



Verifica-se com esse cálculo e com a disposição das distâncias entre os genes que a soma dos valores parciais não resultou na distância entre os genes “a” e “c” calculado no item “c” acima. Essa diferença é devido ao fenômeno da **interferência** que será estudada a seguir.

e) **Fenômeno da coincidência e interferência**

A coincidência e a interferência são dois fenômenos que caracterizam o estudo de três genes ligados no mesmo cromossomo.

A **coincidência** é caracterizada pela ocorrência de dois **crossing-over** juntos, demonstrado pela presença de indivíduos **duplos recombinantes** na descendência do retrocruzamento. Segundo Morgan são aqueles que estão em menor quantidade (BURNS, 1984).

A **interferência** se caracteriza pela não realização de um **crossing-over** próximo a uma região onde outro crossing-over ocorreu primeiro. É determinada pela relação entre a quantidade de indivíduos duplos recombinantes observados e a quantidade de duplos recombinantes esperados. Tanto a coincidência e a interferência podem ser medidas pelas fórmulas que se seguem.

A coincidência pode ser calculada pela fórmula abaixo onde FPDO é frequência de permuta de duplos observados e FPDE é a frequência de permuta de duplos esperados.

$$CC = \frac{FPDO}{FPDE}$$

A primeira FPDO pode ser calculada por:

$$FPDO = \frac{\sum \text{duplos recombinantes}}{\text{Total}}$$

Pelos dados da tabela 7.6 a FPDO é:

$$FPDO = \frac{4 + 7}{726} = 0,0151$$

A FPDE pode ser calculada, utilizando a fórmula a seguir:

$$FPDR = \%P \text{ região I} \times \%P \text{ região II}$$

Pelos dados do mapa gênico do item “d” se obtém o seguinte valor:

$$FPDE = 0,1831 \times 0,1363 = 0,024$$

O coeficiente de coincidência é:

$$CC = \frac{0,0151}{0,024} = 0,6292$$

O valor da FPDE calculado acima diz quanto de indivíduos duplos recombinantes deveriam ocorrer caso não acontecesse à interferência. Porém, como o FPDE e o FPDO são diferentes significa que houve interferência de uma permuta sobre a outra. Essa interferência pode ser calculada por:

$$I = 1 - CC$$

Numericamente a interferência é:

$$I = 1 - 0,6292 = 0,3708 \times 100 = 37,08\%$$

Esse valor calculado de 37,08% significa que um crossing-over que ocorreu, interferiu na realização de outro crossing-over na razão de 37,08%. Por isso, a quantidade de duplos recombinantes observados foi menor do que os duplos recombinantes esperados. Esse valor da interferência será usado no cálculo da quantidade de indivíduos que aparecerão na descendência da geração F₂, conforme o item a seguir.

6. Utilização dos mapas genéticos

Os mapas genéticos servem para dar um parâmetro esperado para a população F_2 . É usado como estimativa para se conhecer o tamanho da população F_2 . No caso do tomate aqui estudado a tabela 7.3 já demonstrou a formação dos gametas, suas frequências, a frequência dos descendentes e suas quantidades. Porém, quando três genes estão envolvidos o cálculo da frequência dos gametas de F_1 para constituir a geração F_2 é um pouco mais complexo, pois se tem que levar em consideração a interferência que ocorreu na formação dos dois quiasmas.

Abaixo, serão demonstradas duas situações. A primeira, onde não ocorreu a interferência e a segunda considerando o valor de interferência. Para tanto, se usará os mesmos valores do mapa cromossômico constituído pelo cálculo das frequências nas regiões do cromossomo de milho (item 5.3.d).

Primeira situação – sem o valor da interferência. Se na região I os genes “a” e “b” recombinaram-se numa frequência de 18,31% significa que em 81,68% das cromátides não ocorreu à recombinação. Essas últimas são chamadas de paternas e as anteriores de recombinantes. Há sempre a formação de duas cromátides recombinantes e duas cromátides paternas, portanto cada um desses valores terá que ser dividido por dois. Ficando, então da seguinte forma: **gametas recombinantes – Ab e aB – 9,15%** **gametas paternas – AB e ab – 40,84%**.

Considerando agora o valor da recombinação da região II o raciocínio é o mesmo. Se a frequência de recombinação é de 13,63% entre os genes “b” e “c” significa que a frequência dos paternas é de 86,37%. A frequência dos gametas será então de: **gametas recombinantes – Bc e bC – 6,81%** e de **gametas paternas = BC e bc – 43,18%**.

A tabela 7.7 a seguir demonstra a formação dos gametas de F_1 para constituir a população de F_2 e suas frequências a partir das frequências determinadas pelo mapa da figura 5.3.d.

Tabela 7.7 – Gametas produzidos na geração F_1 heterozigota considerando três genes e suas frequências a partir do mapa cromossômico.

Gametas	Frequências
ABC (Paternal)	$0,4084 \cdot 0,4318 = 0,1763$
abc (Paternal)	$0,4084 \cdot 0,4318 = 0,1763$
Abc (recombinante na região I)	$0,0915 \cdot 0,4318 = 0,0395$
aBC (recombinante na região I)	$0,0915 \cdot 0,4318 = 0,0395$
ABc (recombinante na região II)	$0,4084 \cdot 0,0681 = 0,0278$
abC (recombinante na região II)	$0,4084 \cdot 0,0681 = 0,0278$
AbC (duplo recombinante)	$0,0915 \cdot 0,0681 = 0,00623$
aBc (duplo recombinante)	$0,0915 \cdot 0,0681 = 0,00623$

No quadrado de Punnett, como auxiliar para o cruzamento de dois heterozigotos (F_1 's) cada gameta terá a frequência calculada na tabela 7.7 gerando então um genótipo. Por exemplo, o genótipo ABC/ABC terá a frequência de $0,1763 \times 0,1763 = 0,03108$. Outro exemplo: o genótipo Abc/aBC terá a frequência de $0,1763 \times 0,0278 = 0,0049$.

O exemplo a seguir será considerado o valor da interferência. A interferência de um **crossing-over** sobre o outro que ocorreu nas proximidades reduz a frequência de duplos recombinante. Portanto, a descendência de F_2 ficará alterada. Para se entender esse cálculo tem-se que retornar a fórmula da interferência, como visto no item 5.3.e.

Uma transformação dessa fórmula fica: $I = 1 - \frac{FPDO}{FPDE}$, mas pode ser transformada para **FPDO = FPDE (1 – I)**. Numericamente se terá **FPDO = 0,024 (1 – 0,3708) = 0,0151**.

O mapa cromossômico do item 5.3.d prevê que na região entre os genes “a” e “b” ocorre uma recombinação de 18,31%. Isso significa que há 18,31 gametas recombinantes entre esses genes em 100

gametas, matematicamente. Como essa região está também envolvida com os duplos recombinantes, esse valor será reduzido pelo valor da FPDO que é 1,51%, o que quer dizer que há 1,51 gametas em 100. Então os gametas dessa região serão $18,31 - 1,51 = 16,8$. Esse valor significa que na região I ocorreram 16,8 gametas recombinantes ao invés de 18,31.

O mesmo raciocínio deve ser feito para a região II. Nessa região a recombinação é de 13,63%, portanto ocorreram 13,63 gametas recombinantes em 100 gametas. Porém, esse valor será reduzido de 1,51 gametas devido a essa região estar envolvida na dupla recombinação. A quantidade de gametas nessa região (região II) será de $13,63 - 1,51 = 12,12$. Na região II, estão se terá 12,12 gametas ao invés de 13,63.

Com os paternos os valores ficam sendo a diferença para 100. Na região I esse valor fica em $100 - 16,8 = 83,2$ e na região II $100 - 12,12 = 87,88$.

Tabela 7.8 – Gametas produzidos na geração F₁ heterozigota considerando três genes e suas frequências a partir do mapa cromossômico, considerando o valor da interferência de 37,08%.

Gametas	Frequências
ABC (paternal)	$0,832 \cdot 0,8788 = 0,7311$
abc (paternal)	$0,832 \cdot 0,8788 = 0,7311$
Abc (recombinante na região I)	$0,168 \cdot 0,8788 = 0,1476$
aBC (recombinante na região I)	$0,168 \cdot 0,8788 = 0,1476$
ABc (recombinante na região II)	$0,832 \cdot 0,1212 = 0,1008$
abC (recombinante na região II)	$0,832 \cdot 0,1212 = 0,1008$
AbC (duplo recombinante)	$0,168 \cdot 0,1212 = 0,0203$
aBc (duplo recombinante)	$0,168 \cdot 0,1212 = 0,0203$

A soma dos valores dos gametas na tabela acima resulta em aproximadamente 2,00 o que significa que os valores estão dobrados. Isso devido ao fato de haver, sempre, dois paternos, dois recombinantes simples em cada região e dois duplos recombinantes. Se for considerada tão somente a tétrade, então o valor de cada um deve ser dividido por dois.

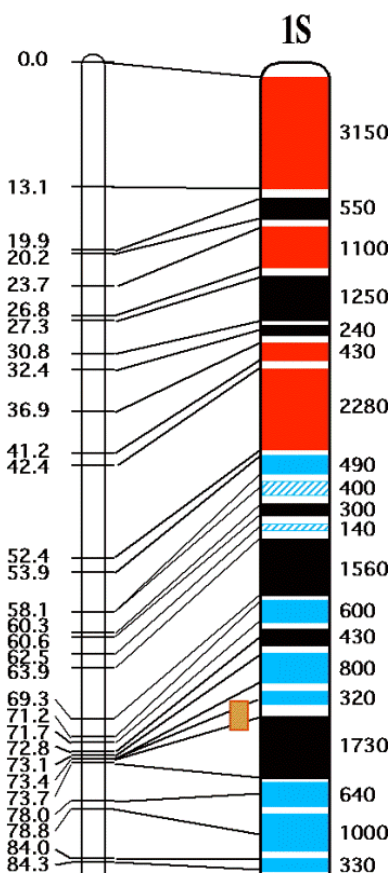
6.1. Determinação da geração F₂ a partir do mapa molecular

O mapa genético molecular é o que determina o sequenciamento de bases nucleotídicas dos genes que o compõe. Associado a esse mapa, onde é possível se conhecer o número de bases e sua posição no gene, está o mapa cromossômico onde estão dispostos os genes e suas frequências de recombinação. Esses mapas podem ser obtidos nos sites específicos como o **Rice Genome Research Program** (<http://rgp.dna.affrc.go.jp/>). Nesse site é possível se encontrar mapas moleculares e cromossômicos de arroz.

A figura 7.6 mostra parte do cromossomo 1 do genoma de arroz onde estão os genes e suas distâncias obtidos a partir do site acima especificado. A partir desse mapa, construído pelos retrocruzamentos específicos pode-se observar a distância entre os genes (valores à esquerda). Esses valores podem ser utilizados para a determinação da frequência dos gametas da geração F₁ para construir a geração F₂, utilizando a mesma metodologia do item anterior.

Figura 7.6 – Parte do cromossomo 1 do genoma de arroz (Fonte: <http://rgp.dna.affrc.go.jp/>)

Por exemplo, se for considerado três genes, “a”, “b” e “c” com suas respectivas posições **13,1 cM**, **20,2 cM** e **23,7 cM**, no cromossomo 1 de arroz, é



possível determinar-se a frequência de recombinação entre esses genes diminuindo a maior distância da menor. Por exemplo, a taxa de recombinação entre os genes “a” e “b” será $20,2 - 13,1 = 7,1$ cM e a taxa de recombinação entre os genes “b” e “c” será de $23,7 - 20,2 = 3,5$ cM.

Se esses valores das distâncias forem transformados para decimais ficam em 0,071 e 0,035. Os valores dos paternos é a diferença de 1. Portanto, o **paternal AB** será $1 - 0,071 = 0,929$ e o **paternal BC** será $1 - 0,035 = 0,965$.

De posse desses valores é possível se projetar as frequências dos gametas para a geração F₂ conforme a tabela abaixo, desconsiderando o fenômeno da interferência.

Tabela 7.9 – Gametas de F₁ e suas frequências a partir do mapa cromossômico.

Gametas	Frequências
ABC (paternal)	$0,929 \cdot 0,965 = 0,895$
abc (paternal)	$0,929 \cdot 0,965 = 0,895$
Abc (recombinante na região I)	$0,071 \cdot 0,965 = 0,068$
aBC (recombinante na região I)	$0,071 \cdot 0,965 = 0,068$
ABc (recombinante na região II)	$0,929 \cdot 0,035 = 0,033$
abC (recombinante na região II)	$0,929 \cdot 0,035 = 0,033$
AbC (duplo recombinante)	$0,071 \cdot 0,035 = 0,0025$
aBc (duplo recombinante)	$0,071 \cdot 0,035 = 0,0025$

Para se determinar o valor de cada genótipo em F₂ os valores dos gametas deverão ser multiplicados, conforme descrito abaixo da tabela 7.7.

7. Determinação da frequência de recombinação com os dados da F₂

Com os dados populacionais resultantes do cruzamento da geração F₁ que constitui a geração F₂ é possível determinar o grau de ligação entre dois genes, utilizando os valores das classes fenotípicas que aparecem nessa geração, se não for realizado o retrocruzamento.

A frequência dos fenótipos duplos recessivos na F₂ pode ser aplicada como um método para calcular a frequência de gametas não permutados, quando em F₁ os genes estiverem em fase de associação, e como um cálculo de frequência de gametas recombinantes quando em F₁ os genes estiverem na fase de repulsão (STANSFIELD, 1985).

7.1. F₁ em fase de associação (AB/ab)

Se a frequência de permuta não é conhecida, mas se conhece a frequência do indivíduo na população F₂, então a porcentagem de gametas não permutados é calculada pela seguinte fórmula:

$$\%x = 2 \cdot \sqrt{\text{frequência do duplo recessivo}}$$

Então, se com esse cálculo se determina a frequência de gametas não permutados o complemento para 100% será o valor da recombinação entre os genes e, portanto a distância entre eles.

7.2. F₁ em fase de repulsão (Ab/aB)

Se a porcentagem de permuta não é conhecida, mas a frequência do indivíduo duplo recessivo (ab/ab) é conhecida, então a porcentagem dos gametas permutados é obtida pela fórmula anteriormente citada, diretamente.

8. Referências bibliográficas

BURNS, F.W. **Genética. Uma introdução à hereditariedade**. Rio de Janeiro: Interamericana. 5.ed. 1984. p. 111-139.

GARCIA, A.A.; PASTINA, M.M. Ligação I. Disponível online <http://docentes.esalq.usp.br/aafgarci/pub/genet5.pdf>. Acessado em 08 de janeiro de 2015.

LIGAÇÃO GÊNICAS E PERMUTAÇÕES. Disponível online <http://www.biomania.com.br/bio/conteudo.asp?cod=1219>. Acessado em 08 de janeiro de 2015.

RAMALHO, M.; SANTOS, J.B.; PINTO, C.A.B.P. **Genética na agropecuária**. Lavras: Editora UFLA. 2008. p. 179-206.

RICE GENOMA RESEARCH PROGRAM. Disponível online <http://rgp.dna.affrc.go.jp/>. Acessado em 08 de janeiro de 2015.

STANSFIELD, W.D. **Genética**. São Paulo: McGraw-Hill. 2.ed. 1985. p. 123-183.

Exercícios

- Represente a ligação fatorial por associação e por repulsão.
- Na *Drosophila* a forma de olhos no formato de rim é produzida pelo gene recessivo *k* localizado no cromossomo 3. A cor de olhos alaranjada é produzida pelo gene recessivo *cd* localizado no mesmo cromossomo. Entre estes dois loci encontra-se um terceiro locus com o alelo recessivo *e* que produz a cor ébano para o corpo. Fêmeas homocigotas com olhos *k* e de cor alaranjada são acasaladas com machos homocigotos com corpos ébano. As fêmeas tri híbridas de F_1 são então submetidas ao cruzamento-teste para produzirem a F_2 . Entre a progênie F_2 de 4.000 indivíduos encontramos os seguintes: 1.761 kidney, cardinal; 1.773 ebony; 128 kidney, ebony; 138 cardinal; 97 kidney; 89 ebony, cardinal; 6 kidney, ebony, cardinal; 8 selvagem (Stansfield, 1985, p.151).
 - Determine a maneira de ligação destes genes. **R:** os genes estão ligados em TRANS.
 - Faça uma estimativa das distâncias no mapa. **R:** “k” para “e” = 7 cM e “e” para “cd” = 5 cM.
- Tomate, a planta alta (d+) é dominante sobre a planta anã (d), e a forma esférica do fruto (p+) é dominante sobre a forma pêra (p). Os genes para a altura e forma do fruto estão ligados com 20% de “crossing-over”. Certa planta alta e de fruto esférico cruzada com uma planta anã e frutos em forma de pêra produziu 81 plantas altas com frutos esféricos; 79 anãs com frutos em forma de pêra; 22 altas com frutos em forma de pêra e 17 anãs com frutos esféricos. Outra planta alta com frutos esféricos cruzada com uma planta anã com frutos em forma de pêra produziu 21 altas com frutos esféricos; 18 anãs com frutos esféricos; 5 altas com frutos em forma de pêra e 4 anãs com frutos em forma de pêra.
 - Se as plantas híbridas forem cruzadas entre si, que classes fenotípicas se poderia esperar e em que proporção? **R:** Alta, esférica = 0,6622; Alta, pêra = 0,0877; Anã, esférica = 0,0857 e Anã, pêra = 0,1636.
 - Numa população de 1.000 plantas, quantas de cada fenótipo deveriam aparecer, aproximadamente? **R:** Alta esférica \approx 662; Alta, pêra \approx 88; Anã, esférica \approx 86 e Anã, pêra \approx 165.
- De posse dos dados abaixo, determine o intervalo de probabilidade P, pelo teste do qui-quadrado, para as seguintes características derivadas de retrocruzamento em tomate, onde um dos genitores possui frutos com bico e o outro com sépala curta. **R:** O valor excede a probabilidade P com 3 gl e 0,001.

Fenótipos	Quantidades
Normais	89
Sépalas curtas	25
Frutos com bico	30
Sépalas curtas e frutos com bico	81

5. Um gene bifurcado – forked – (f) faz com que as cerdas ou pelos curtos sejam envergados ou divididos na *Drosophila*. Outro gene, outstretched (od) resulta em asas disposta em ângulo reto com o corpo. Um terceiro gene chamado garnet (g) produz olhos de cor rósea nas moscas jovens. Fêmeas do tipo selvagem heterozigotas em todos os três loci foram cruzadas com machos homozigotos resultaram em: 57 garnet, outstretched; 419 garnet, forked; 60 forked; 1 outstretched, forked; 2 garnet; 439 outstretched; 13 selvagens; 9 outstretched, garnet, forked: total de 1.000 indivíduos (Fonte: Stansfield, 1985, p. 171).
- Qual o gene mediano? **R:** forked.
 - Calcule a distância-mapa. **R:** garnet para forked = 12,0 cM e forked para outstretched = 2,5 cM.
 - Qual grau de interferência? **R:** zero.
6. Dois cruzamentos entre feijões foram realizados para se entender a herança do hábito de crescimento e a resposta ao fotoperíodo. As variedades envolvidas, K e F são de hábitos de crescimento determinado e de dois curtos e a variedade Gig tem hábito de crescimento indeterminado e tardio. Os cruzamentos (1) K x Gig e (2) F x Gig, foram realizados e as F₂'s mostraram a seguinte segregação, considerando que hábito indeterminado é dominante sobre determinado e que tardio é dominante sobre dias curtos.

Cruzamentos	Segregação			
	Tipo Parental		Tipo Recombinante	
	Dias curtos, det.	Tardio, indet.	Tardio, det.	Dias curtos, indet.
(1)	61	109	6	49
(2)	53	83	5	26

- Determine a significância ou não das segregações, tendo por base a Teoria de Mendel. **R:** É significativo. Os genes são ligados.
 - Se houver significância, qual a frequência de ligação entre os genes? **R:** Cruzamento (1) = 1,04 cM e Cruzamento (2) = 1,12 cM.
7. Em milho, uma planta F₁ completamente heterozigota era vermelha e tinha sementes normais. Esta planta foi cruzada com uma planta verde que tinha sementes Tassel (ts). Foram obtidos os seguintes resultados: 124 vermelhas normais; 126 vermelhas tassel; 125 verdes normais e 123 verdes tassel.
- Isto indica ligação? **R:** Não.
 - Se indica, qual a percentagem de permuta?
 - Se não, mostre que a frequência e recombinação é mais que 50%. **R:** A recombinação é de 50,40 cM, portanto os genes são independentes.
 - Esquematize o cruzamento mostrando o arranjo dos marcadores genéticos nos cromossomos.
8. Em *Phaseolus lunatus* L. o gene que determina o hábito de crescimento D (indeterminado) é dominante sobre d (determinado) e dista do da forma da folha Wl (lanceolada), que é dominante sobre wl (ovalada) em 2,1% e do da cor do tegumento R (vermelho escuro), que é dominante sobre r (vermelho) em 39,3%. Baseado nesses dados determine a frequência de gametas que um trihíbrido (F₁) poderá produzir, para constituir a população F₂. **R:** DW₁R e dw₁r = 0,5942; Dw₁r e dW₁R = 0,0127; DW₁r e dw₁R = 0,3847 e Dw₁r e dW₁r = 0,00825
9. De posse do seguinte mapa genético do milho. Determine a frequência de gameta para F₂, do cruzamento de dois F₁ considerando apenas os três primeiros genes. **R:** L_g₁Gl₂B e l_g₁gl₂b = 0,7193; L_g₁gl₂b e l_g₁Gl₂B = 0,1946; L_g₁Gl₂b e l_g₁gl₂B = 0,0676 e L_g₁gl₂B e l_g₁Gl₂b = 0,0183.

Ig1	gl2	B	Sk	ts1	v4
-----21,3-----/-----8,6-----/-----6,9-----/-----12,9-----/-----7,3-----/					

10. Utilizando o mapa genético da questão anterior determine a quantidade de indivíduos esperados para F₂, num total de 10.000, que corresponderia a cada um dos fenótipos. Considere apenas os dois últimos genes do mapa, sendo que o gene ts1 produz sementes “tassel” e o seu alelo Ts1 sementes normais e o gene v4 produz folhas brilhantes e seu alelo V4 folhas normais. **R:** Normal, normal = 7.146; Normal, brilhante = 351; Tassel, normal = 351 e Tassel, brilhante = 2.148;

11. Dois fenômenos ocorrem na prófase da meiose e são importantes para a formação dos grãos de pólen. Esses fenômenos são ____ e a frequência de recombinação atinge a ____.
- Pareamento de todos os cromossomos homólogos somente resultando numa frequência de recombinação de 50%.
 - Troca de partes de todos os cromossomos devido ao pareamento alcançando uma frequência de recombinação de 10%.
 - Troca de partes de alguns cromossomos, mas pareamento de todos, alcançando uma frequência menos do que 50%.
12. Baseado no mapa cromossômico abaixo calcule a interferência, sendo que somente 39 indivíduos, em 5.000, são duplos recombinantes: **R:** Interferência de 78%.

se	ec	cv
9,1 10,9		

13. Discuta a seguinte questão “Em genes ligados é normal que haja interferência de um quiasma na ocorrência de outro”. Quando essa interferência não ocorre?
14. Por que, nos resultados do retrocruzamento, os paternos são sempre os que estão em maior quantidade?