

Genética na escola



- Conceitos em Genética
- Na Sala de Aula
- Materiais Didáticos
- Resenha
- Um Gene

Índice

■ Conceitos em Genética

Por dentro do círculo: o DNA mitocondrial	2
---	---

■ Na Sala de Aula

Evolução em campo: uma prática de ensino de evolução.....	14
---	----

Ensinar Genética e Evolução por meio de jogos didáticos: superando concepções alternativas de professores de ciências em formação.....	24
---	----

■ Materiais Didáticos

O efeito da construção de uma usina hidrelétrica na biodiversidade de peixes: uma investigação sobre frequências alélicas e fenotípicas	38
--	----

A importância da genética na conservação de espécies ameaçadas: um modelo didático envolvendo o manejo de populações pequenas	48
--	----

Variação adaptativa em caracteres quantitativos: estimando a resposta à seleção natural a partir da herdabilidade para inferir o potencial evolutivo	60
---	----

O princípio elementar de Mendel aplicado a teste de paternidade: uma simulação a partir do triângulo amoroso em Dom Casmurro	70
---	----

■ Resenha

BIOEDIT: um software para alinhamento de genes e construção de árvores evolutivas	82
---	----

A dupla hélice: como descobri a estrutura do DNA. Watson, J. Rio de Janeiro: Ed Zahar, 2013	84
---	----

■ Um Gene

Gene SRC e a família SRC de proteínas-quinase.....	86
--	----

O gene <i>PRNP</i> codificador da proteína prón e o mal da vaca louca.....	94
--	----

Genética na escola

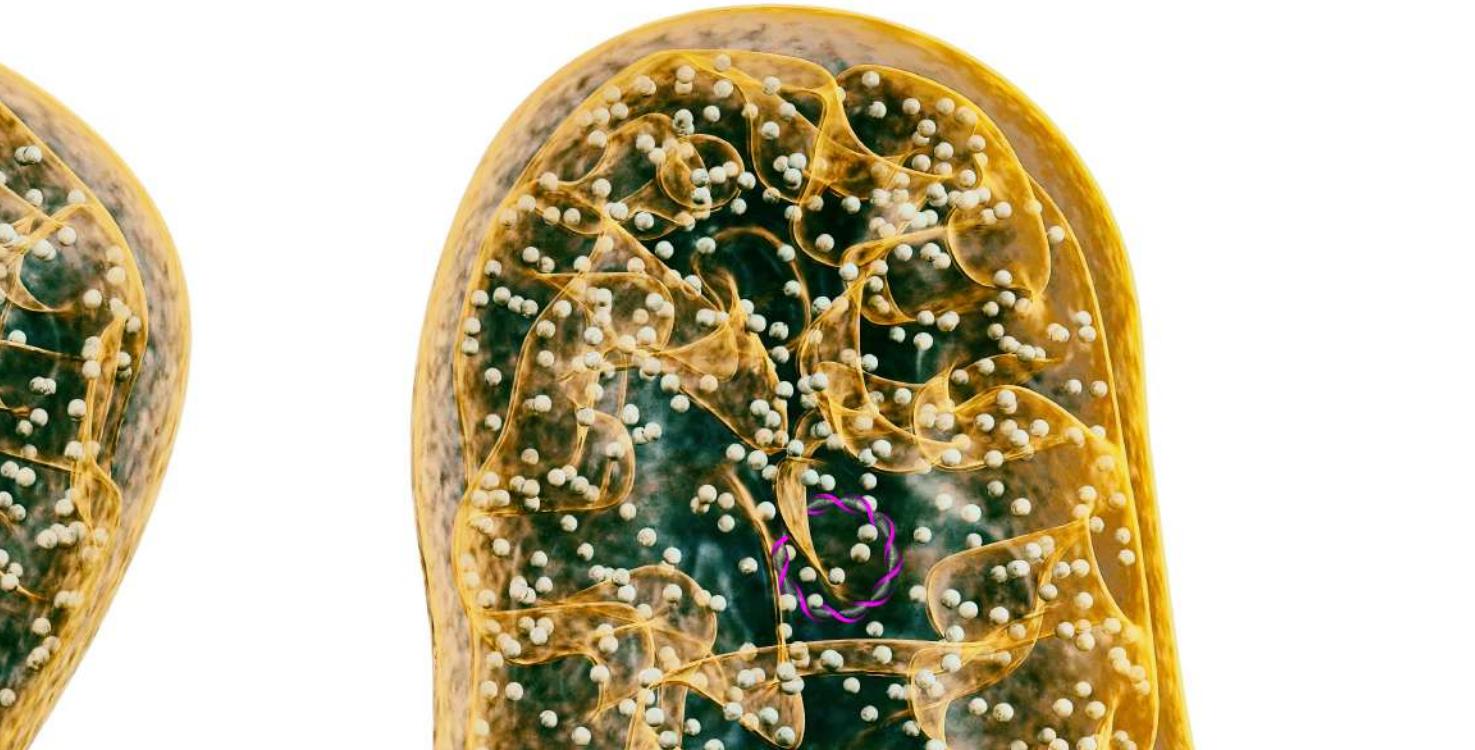
Por dentro do círculo: o DNA mitocondrial



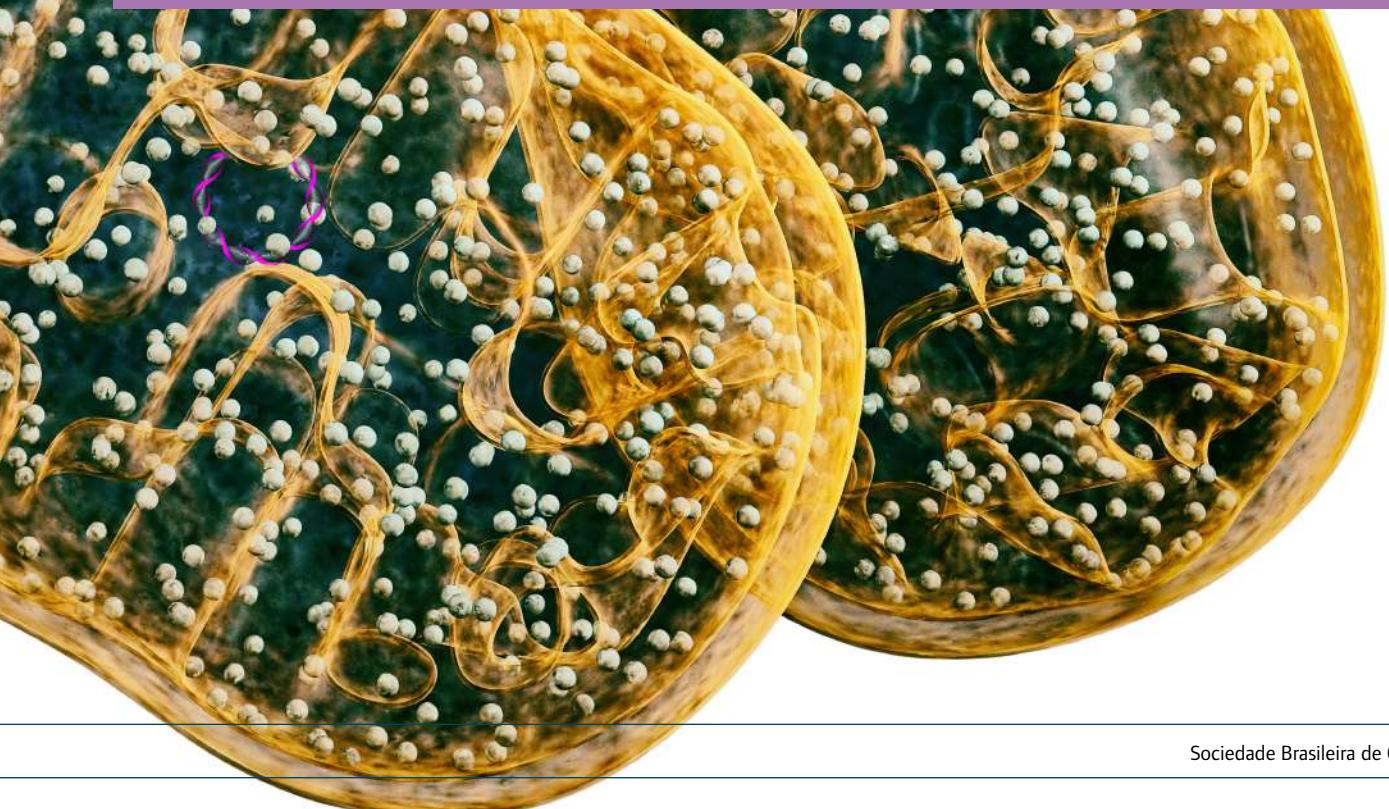
Regina Célia Mingroni Netto

Departamento de Genética e Biologia Evolutiva,
Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo

Autor para correspondência: renetto@ib.usp.br



Mitocôndrias são organelas fascinantes por vários motivos: são a sede principal da produção de energia sob a forma de trifosfato de adenosina (ATP) na célula, controlam importantes processos, como a sobrevivência e a morte celular, e ainda exibem a peculiaridade de serem as únicas organelas das células animais a conter material genético próprio, o DNA mitocondrial. Neste artigo apresentamos como se organiza, como funciona e qual a importância dessa pequena molécula de DNA na nossa saúde e como ela pode ser usada para estudar a evolução dos seres humanos.



CONCEITOS EM GENÉTICA

As mitocôndrias são organelas celulares envoltas por dupla membrana, presentes em quase todas as células eucarióticas. São responsáveis por numerosos processos celulares. À medida que elétrons fluem sequencialmente pela cadeia de transporte de elétrons, prótons são bombeados para fora da membrana mitocondrial interna gerando um gradiente eletroquímico. Este “capacitor” mitocondrial é a força vital que, acoplado à síntese do ATP, é usada para conduzir muitos processos biológicos. O transporte de prótons contra um gradiente eletroquímico é o processo que possibilita o acoplamento do transporte de elétrons com a fosforilação do ADP em ATP. Portanto, esse processo que combina transporte de elétrons com produção de ATP chama-se **fosforilação oxidativa**.

Além desta função mais lembrada das mitocôndrias, que é a produção das moléculas de ATP por meio do processo de fosforilação oxidativa, elas estão também relacionadas a funções primordiais como manutenção de níveis de cálcio nas células e na regulação de processos que culminam com a **apoptose**.

Estas organelas também são notáveis porque, juntamente com os cloroplastos presentes nas células vegetais, são estruturas que possuem material genético próprio. O DNA mitocondrial (DNAm) tem propriedades genéticas e moleculares muito peculiares quando comparado ao DNA que está no núcleo, nos cromossomos.

ESTRUTURA E FUNCIONAMENTO DO DNA MITOCONDRIAL

O DNA mitocondrial dos seres humanos é circular, tem cerca de 16.600 pares de bases e contém sequências nucleotídicas que correspondem a 37 genes; codifica 13 proteínas que são componentes da cadeia de fosforilação oxidativa, 22 RNA transportadores (RNAt) que atuam na síntese de proteínas mitocondriais, e duas moléculas de RNA ribossômico (12S e 16S, que constituem as subunidades dos ribossomos mitocondriais) responsáveis pela tradução de proteínas que atuam na própria mitocôndria. O conteúdo gênico do DNAm dos humanos é muito representativo do panorama geral presente entre os animais, principalmente entre os

vertebrados, mas também podem ocorrer variações importantes no tamanho e na estrutura dos DNA mitocondriais entre os grandes grupos de seres vivos.

Além disso, é importante lembrar que, em uma mitocôndria, atuam mais cerca de 1300 tipos de polipeptídios diferentes que são codificados por genes que estão localizados nos cromossomos presentes dentro do núcleo, significando que o funcionamento de uma mitocôndria depende tanto de produtos que são transcritos e traduzidos a partir de genes do DNA mitocondrial (DNAm) como também do produto de numerosos genes presentes no núcleo.

A ESTRUTURA E O FUNCIONAMENTO DOS DNA MITOCONDRIAIS REVELAM A SUA ORIGEM A PARTIR DE BACTÉRIAS

Uma das ideias mais importantes sobre origem da célula eucariótica foi a dedução de que as mitocôndrias originaram-se a partir de **bactérias endossimbióticas** que perderam a independência, ou seja, a capacidade de existência autônoma em relação à célula hospedeira. A proposição foi feita pela primeira vez por Margulis, em 1971. Esse evento de endossimbiose deve ter ocorrido por volta de dois bilhões de anos. Sob tal ótica, o DNA mitocondrial de todos os organismos existentes atualmente deriva da molécula de DNA, que era o cromossomo da bactéria endossimbionte, que deu origem às mitocôndrias. Com o passar do tempo, a maior parte do material genético dessa bactéria foi transferido para o genoma nuclear da célula hospedeira ou foi perdido, de modo que, na maior parte dos organismos atuais, as moléculas de DNAm são muito menores do que o genoma completo de uma bactéria.

De fato, diversas peculiaridades da estrutura e do funcionamento do DNA mitocondrial atestam sua provável origem bacteriana. O DNA mitocondrial é circular na maioria dos organismos, assim como o das bactérias; possui somente uma ou duas origens de replicação ativas e o cromossomo bacteriano tem uma única origem de replicação; é expresso por meio de apenas duas regiões

Capacitor - Termo utilizado em eletricidade para descrever um componente que armazena cargas elétricas num campo elétrico, acumulando desequilíbrio de cargas elétricas. Neste texto, ele foi utilizado, por comparação, para descrever o fenômeno do gradiente de prótons que ocorre na membrana da mitocôndria, que controla a síntese de ATP na cadeia de fosforilação oxidativa.

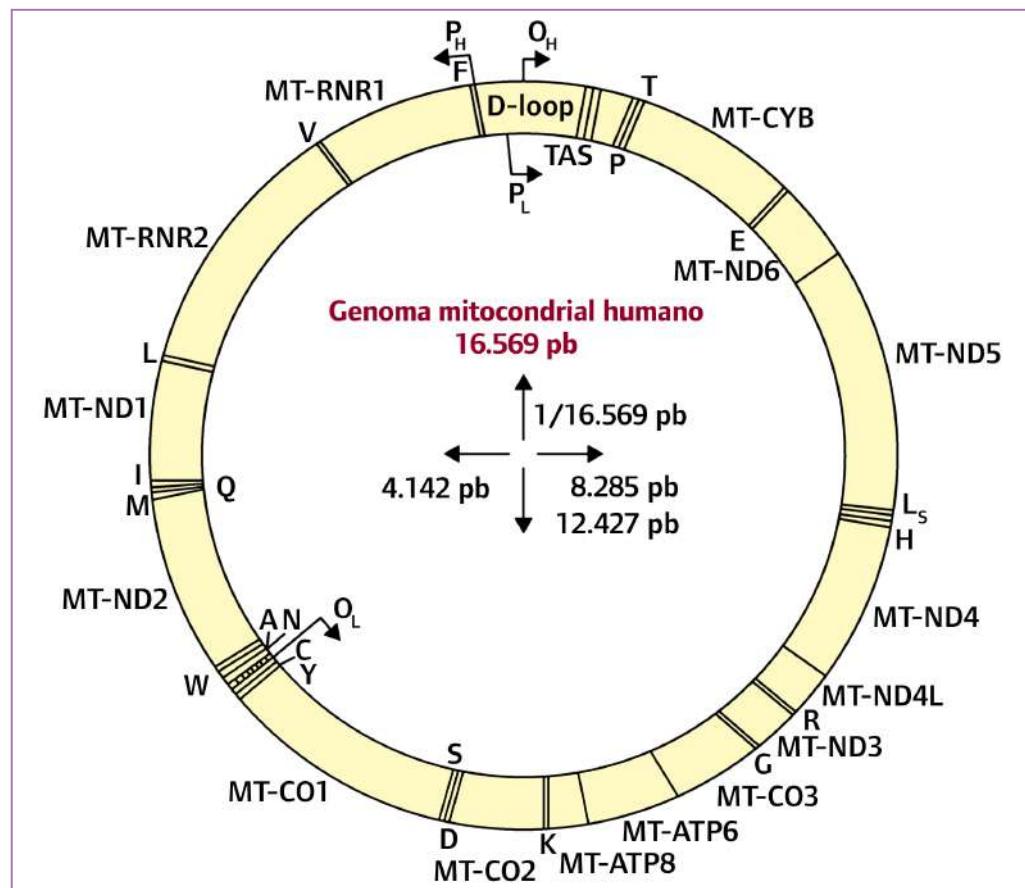
Fosforilação oxidativa

- Processo que ocorre em bactérias e mitocôndrias no qual a formação do ATP (trifosfato de adenosina) acontece por meio da transferência de elétrons através de uma cadeia transportadora até a molécula de oxigênio.

Bactérias endossimbióticas

- Bactérias intracelulares, originalmente parasitas, que têm uma relação de simbiose com as células eucarióticas hospedeiras.

Apoptose - Forma de morte celular programada. É ativada internamente na célula animal como uma espécie de autodestruição. A morte celular na apoptose é mediada por enzimas proteolíticas chamadas de caspases.

**Figura 1.**

Mapa do DNA mitocondrial humano. O círculo de fora corresponde à cadeia pesada (H) e o círculo de dentro à cadeia leve (L). OH corresponde à origem da replicação da cadeia pesada e OL corresponde à origem da replicação da cadeia leve. PH corresponde à região promotora da transcrição da cadeia pesada e PL corresponde à região promotora da transcrição da cadeia leve. Os dois genes que servem de molde à transcrição dos RNAs ribossômicos (12S e 16S) são os genes *MT-RNR1* e *MT-RNR2* e os genes das 22 moléculas de RNAt mitocondrial estão representados pelas letras que correspondem aos respectivos aminoácidos. Os 13 genes restantes codificam proteínas que são componentes de complexos que participam da cadeia de fosforilação oxidativa. O D-loop corresponde à região onde se situam as sequências regulatórias importantes para replicação e transcrição. Os direitos autorais da imagem pertencem a Editora Guanabara Koogan, publicado com autorização.

promotoras, uma que promove o início da transcrição usando como molde uma das duas fitas do DNA de dupla-fita mitocondrial, e uma segunda que promove o início da transcrição da fita complementar. Em outras palavras, todos os genes do DNA mitocondrial circular expressam-se por meio de dois únicos longos RNAs transcritos que podem ser chamados de policistrônicos, pois possuem a sequência de código para vários polipeptídeos diferentes. RNAs policistrônicos são frequentes na expressão gênica bacteriana, mas são pouco comuns na expressão dos genes dos organismos eucarióticos complexos. Além disso, o DNA mitocondrial ocorre na mitocôndria em múltiplas cópias, assim como os cromossomos circulares bacterianos e os plasmídeos, no interior das células das bactérias. A regulação da replicação do DNAm_t é independente da regulação da cronologia da replicação do DNA nuclear.

Todos esses fatos confirmam a origem do DNA mitocondrial a partir do genoma de uma bactéria endossimbiótica ancestral. Ainda, estudos filogenéticos das sequências de DNA mitocondrial presentes nos dife-

rentes grupos de seres vivos apontam para a probabilidade de que todos os DNA mitocondriais atuais podem ser descendentes de um único genoma bacteriano ancestral, o que indica que o evento de endossimbiose, que originou as mitocôndrias, ocorreu uma única vez. Um estudo filogenético recente, visando reconstruir a possível origem do genoma mitocondrial ancestral, sugeriu que o DNA mitocondrial e o genoma das Alfabacterias descendem de um ancestral comum. A similaridade é maior com bactérias de um determinado clado da ordem Rickettsiales. Embora a suposta bactéria ancestral provavelmente pertencesse a este clado, que inclui bactérias marinhas e de vida livre, tem-se que, hoje, muitas das bactérias da ordem Rickettsiales são parasitas intracelulares obrigatórios.

Em relação ao conteúdo gênico, a análise comparativa das moléculas de DNAm_t presentes nos seres vivos atuais indica que a molécula de DNA mitocondrial ancestral de todos os seres vivos era provavelmente maior do que na maioria das moléculas atuais. Deverem ter ocorrido perdas de diversos genes e

o padrão de perda de informação genética foi diferente entre os diversos seres vivos. Ao se avaliar o conteúdo gênico do DNA mitocondrial comparativamente, constatou-se que é no grupo dos protozoários que está o maior “genoma” mitocondrial, talvez o mais similar que tenhamos nos dias de hoje em relação ao que foi o DNA mitocondrial ancestral, quando ocorreu o evento de endossimbiose. Assim, supõe-se que uma bactéria similar às riquetsias deve ter sido envolvida no evento de endossimbiose, e, logo após esse evento, o DNA da mitocôndria, que se originou, deve ter sido semelhante ao DNA mitocondrial de alguns protozoários que ainda existem, mas especificamente os do gênero *Reclinomonas*.

A HERANÇA UNIPARENTAL DO DNA MITOCONDRIAL

Alguns grupos de animais, por exemplo, alguns moluscos e também fungos e plantas exibem o que chamamos de herança biparental do DNA mitocondrial. Nesses organismos, moléculas de DNA mitocondrial herdadas de ambos os parentais estão presentes. No entanto, na vasta maioria dos animais ocorre a herança uniparental do DNA mitocondrial e essa molécula é sempre herdada do gameta materno.

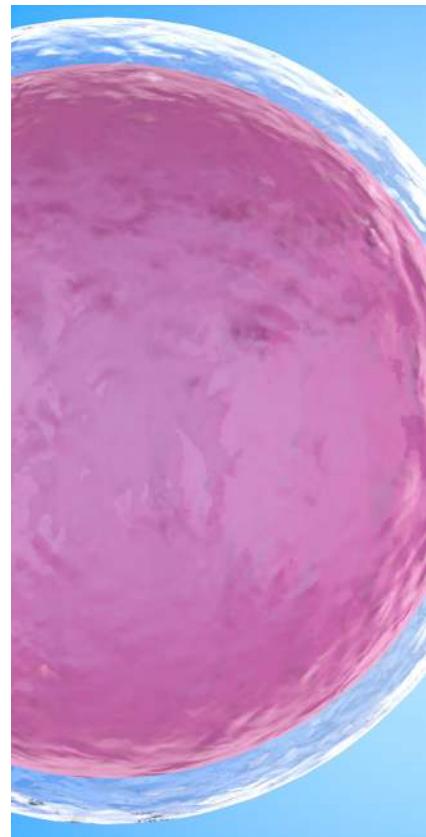
A herança exclusivamente materna na maioria dos animais, principalmente nos mamíferos, incluindo os humanos, tem consequências práticas importantes: primeiro, doenças de herança mitocondrial são transmitidas somente por mulheres aos seus descendentes; a segunda consequência é que estudos filogenéticos e de estimativa do tempo de divergência entre espécies são elaborados sob a premissa de que o DNA mitocondrial não sofre recombinação, uma vez que não coexistem na mesma célula, ou no mesmo indivíduo, moléculas de DNA de origem paterna e materna.

Esses fatos suscitam uma pergunta importante: por que a herança do DNAmt é exclusivamente materna? Infelizmente, a explicação mais popular e a mais repetida em livros didáticos é a mais inadequada dentre todas: diz que na fecundação dos mamíferos, a peça intermediária e o flagelo do espermatozoide não penetram no óvulo, sendo deixados de

fora. Como as mitocôndrias do espermatozoide estão localizadas na peça intermediária, essa explicação parece perfeita para explicar a herança exclusivamente materna do DNAmt. No entanto, desde a década de trinta, sabe-se que na fecundação dos mamíferos, o espermatozoide penetra completamente no óvulo. Há exemplos de raras espécies de roedores em que, excepcionalmente, ocorre eliminação da peça intermediária e do flagelo. Assim, embora a embriologia conheça há décadas o mecanismo correto da fecundação em mamíferos, incluindo a dos humanos, muitos livros ainda retratam erroneamente em esquemas e textos a informação de que a cauda e a peça intermediária ficam para fora na fecundação.

A segunda questão importante para a discussão da herança materna é a questão numérica. É fato, sim, que o número de mitocôndrias presentes em um ovócito é muito maior do que as presentes no espermatozoide, talvez da ordem de 10 mil vezes maior. Consequentemente, o número de cópias de DNAmt paterno será sempre muito inferior ao número de cópias de DNAmt materno após a fecundação. De fato, estima-se que um espermatozoide tenha 1200 cópias de DNAmt, enquanto há cerca de 100 mil presentes em um ovócito, o que reduz significativamente a chance de um organismo herdar moléculas de DNAmt paterno. Mas, ainda que levemos em conta a questão numérica, seria admissível que com alguma frequência houvesse transmissão de DNAmt paterno à prole ou que houvesse relatos frequentes de transmissão paterna de doenças de herança mitocondrial, o que não ocorre.

A partir de 1999, trabalhos importantes evidenciaram a presença de mecanismos celulares que culminam com a destruição das mitocôndrias oriundas do espermatozoide logo após a fecundação. Sutovski e colaboradores, em 1999, mostraram que as mitocôndrias dos espermatozoides de bovinos tinham suas proteínas marcadas com ubiquitina, um pequeno peptídeo celular, que tem como função marcar estruturas e organelas celulares para destruição por meio de uma via celular conhecida como a do **proteassomo**. Sutovski demonstrou que o tratamento dos espermatozoides dos bovinos com anticorpos anti-u-



Proteassomo ou **proteossomo** – é um aparato celular, formado por muitas subunidades proteicas, que destrói proteínas anormais. Trata-se de uma protease dependente de ATP que corresponde a cerca de 1% do total das proteínas presentes na célula. O proteassomo age sobre proteínas que foram marcadas especificamente para destruição por meio de ligação covalente a uma pequena proteína, a ubiquitina.



biquitina reduziu drasticamente a destruição das mitocôndrias paternas e permitiu a transmissão de DNA_{mt} paterno aos descendentes. Após o estudo primordial de Sutovski, estudos em outros grupos de animais que exibem herança uniparental do DNA_{mt} foram conduzidos e outros mecanismos celulares que impedem a transmissão de DNA_{mt} paterno foram esclarecidos. Por exemplo, em *Drosophila*, ocorre redução do número e eliminação de moléculas de DNA_{mt} paterno durante o processo de amadurecimento do espermatozoide. No verme *Caenorhabditis elegans*, os lisossomos, por meio do processo de autofagia, são os principais responsáveis por destruir mitocôndrias paternas após fecundação. Hoje, investiga-se muito nos dias de hoje quais os mecanismos, dentre os três mencionados acima, são os presentes ou os preponderantes nos diferentes grupos de animais.

Como resultado destes mecanismos de eliminação de mitocôndrias paternas, a premissa de que o DNA mitocondrial tem herança exclusivamente materna permanece válida. Em apenas um único exemplo na espécie humana foi relatada a transmissão de DNA mitocon-

drial de pai para o filho, um rapaz afetado por miopatia decorrente de uma pequena deleção no DNA mitocondrial. Desde então, mesmo após várias investigações com técnica muito precisa, o chamado sequenciamento massivo paralelo (ou sequenciamento de nova geração) de genomas mitocondriais inteiros não foram detectados outros casos de transmissão paterna de DNA_{mt}, indicando que o caso relatado realmente é excepcional.

AS DOENÇAS DE HERANÇA MITOCONDRIAL

Ao contrário das doenças causadas por mutações no DNA nuclear, que são herdadas de acordo com as leis Mendelianas de transmissão, o DNA mitocondrial tem transmissão exclusivamente materna. Assim, as doenças decorrentes de mutações no DNA mitocondrial, desde que tenham ocorrido na linhagem germinativa feminina, podem ser transmitidas para todos os descendentes das mulheres que possuem tais mutações. Mas quando um homem herda uma doença decorrente de mutação no DNA mitocondrial, não a transmite aos seus descendentes (Figura 2).

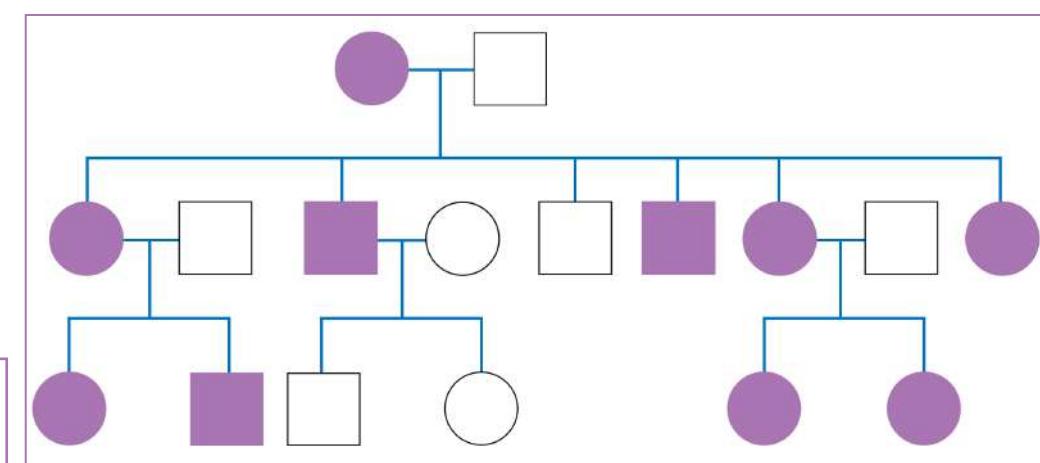


Figura 2. A figura mostra a genealogia de uma família em que existe uma doença de herança mitocondrial. Os símbolos escuros indicam pessoas afetadas pela doença. Observe que as mulheres afetadas transmitiram a característica aos seus filhos, mas os homens afetados, não. Observe também que há um homem que, embora seja filho de mulher afetada e provavelmente tenha herdado a mutação mitocondrial, não manifestou a doença.

As doenças hereditárias de herança mitocondrial são muitas e a maioria caracteriza-se por fenótipos que incluem alterações simultâneas em vários órgãos e sistemas. Algumas têm muitos sintomas diferentes e por isso são nomeadas por acrônimos, ou seja, pelas siglas dos sinais clínicos mais comuns. Por exemplo, destacam-se algumas doenças

como LHON (do inglês, *Leber hereditary optic neuropathy*) que se caracteriza por cegueira; MERRF (do inglês, *myoclonic epilepsy and ragged red fiber disease*), doença neurológica que inclui a epilepsia como sintoma e também alterações das fibras musculares; MELAS (do inglês, *mitochondrial encephalomyopathy and stroke-like episodes*), encefa-

CONCEITOS EM GENÉTICA

lopata que inclui episódios semelhantes a derrames. Estas doenças são difíceis de diagnosticar clinicamente porque há sobreposição entre os sintomas de cada uma delas. São complicadas as relações entre as mutações e os quadros clínicos: quadros clínicos muito parecidos surgem de mutações em genes mitocondriais diferentes e mutações em um mesmo gene mitocondrial que acarretam, às vezes, várias síndromes distintas.

Apesar de muitas doenças diferentes serem causadas por mutações no DNA mitocondrial, há vários sintomas semelhantes em muitas delas. Por exemplo, a ocorrência de sintomas musculares (miopatias mitocondriais), problemas neurológicos (convulsões, episódios semelhantes a derrames, tremores semelhantes a Parkinsonismo), a ocorrência de disfunções endócrinas (como diabetes mellitus) e de disfunções sensoriais, como a atrofia óptica e a surdez, que são frequentes entre os afetados. A hipótese para explicar esses achados clínicos é a de que os órgãos e tecidos mais comprometidos são os com mais elevada demanda de energia sob a forma de ATP, produzido na mitocôndria, ou que, pelo menos, estes órgãos precisam responder de forma rápida a mudanças de demanda de produção de energia.

Embora quase todas as doenças hereditárias decorrentes de mutações nos genes que ficam no núcleo exibam expressividade variável dos quadros clínicos, nas doenças de herança mitocondrial essa variabilidade é muito maior. Apesar de todos os indivíduos de uma irmandade herdarem o mesmo tipo de mutação mitocondrial, ocorrem indivíduos com graus muito variáveis de manifestação da doença e às vezes há indivíduos que nem manifestam o quadro clínico.

A principal explicação para essa enorme variabilidade de expressão reside em um fenômeno molecular que ocorre somente na herança mitocondrial, a chamada **heteroplasmia**. O fenômeno está relacionado ao fato de que há várias cópias de DNAmt em cada célula. Como cada célula contém muitas mitocôndrias, cada mitocôndria contém várias moléculas de DNAmt. Então, cada célula tem uma população grande de moléculas de DNAmt. Quando surge uma mutação no

processo de replicação de uma única molécula de DNA localizada em uma única mitocôndria, como é possível que essa mutação possa passar a estar presente em todas as moléculas de DNAmt de um indivíduo e que ela possa ser transmitida à geração seguinte? Isso indica que existem estágios intermediários nesse processo, nos quais nem todas as moléculas de DNA mitocondrial dos indivíduos têm sequência idêntica. A heteroplasmia então consiste em uma espécie de **mosaicismo** de sequência nucleotídicas mitocondriais que surgiram por mutações no DNA mitocondrial. Quando uma célula heteroplásica divide-se, sequências de DNAmt selvagens ou mutadas distribuem-se ao acaso nas células filhas. Então, a frequência dos genótipos mitocondriais do indivíduo pode sofrer **deriva** em relação à frequência e à distribuição da heteroplasmia.

Caso essa situação de heteroplasmia venha a se instalar em células da linhagem germinativa de uma mulher, ela pode ser transmitida às futuras gerações. Se uma mutação que está em heteroplasmia for transmitida e causar uma doença, pode-se ter, a partir daí, a transmissão nessa família de uma doença de herança mitocondrial. Hoje sabe-se que pessoas da mesma família podem herdar proporções diferentes de DNA mitocondrial mutado e não mutado e que isso pode afetar a gravidade da doença. Também se sabe que a distribuição do DNA mitocondrial mutado e não mutado nos diferentes tecidos influencia sintomas e com que gravidade eles se manifestam. É conhecido que algumas doenças mitocondriais só se manifestam se a proporção de DNA mutado no indivíduo ou em um tecido for maior do que um certo limiar. Em resumo, a heteroplasmia, em muitos casos, explica porque há tanta variabilidade clínica nas doenças de herança mitocondrial.

No entanto, algumas famílias transmitem pela linhagem feminina somente DNA mitocondrial mutado, sem heteroplasmia detectável. Então, por que nessas famílias também ocorre variabilidade nos sinais clínicos da doença? Outros fatores são muito importantes na manifestação de algumas doenças, como estresse e idade, que influenciam muito o aparecimento dos sintomas.

Mosaicismo - propriedade que têm organismos em que ocorrem pelo menos duas linhagens celulares com constituição gênica ou cromossômica distinta, os mosaicos. As diferenças podem decorrer de alterações de pequena escala na molécula de DNA ou de alterações cromossômicas surgidas em divisões celulares pós-zigóticas.

Deriva - alteração aleatória de frequências gênicas decorrentes do acaso.

Heteroplasmia - Fenômeno que se caracteriza pela coexistência, em uma mesma mitocôndria, ou em uma mesma célula, ou em um mesmo tecido ou em um mesmo indivíduo, de moléculas de DNA mitocondrial com sequências nucleotídicas diferentes.

A TAXA DE MUTAÇÃO NO DNA MITOCONDRIAL É MAIS ELEVADA DO QUE A DOS GENES NUCLEARES

Tem sido observado nos humanos e em praticamente todas as espécies estudadas que a taxa de mutações do tipo substituição de nucleotídeos no DNAmt é 10 vezes maior do que uma sequência localizada no genoma nuclear. Essas altas taxas resultam em uma enorme variedade de sequências de DNA mitocondrial nas populações humanas, principal razão pela qual o DNA mitocondrial é tão utilizado em estudos populacionais e na identificação individual (incluindo aplicações forenses). Existem sistemas de reparo do DNAmt ativos na mitocôndria, porém eles parecem ser menos eficazes do que os presentes no núcleo. Além disso, vários outros fatores explicam essa elevada taxa de mutação: por causa de sua função de gerar ATP por meio da fosforilação oxidativa, a concentração de **espécies reativas de oxigênio** na mitocôndria é elevada. Essas moléculas provocam danos à molécula de DNA e podem resultar em mutações se não forem devidamente reparados. Um segundo fator está relacionado ao elevado número de cópias e a aparente maior taxa de renovação das moléculas de DNA mitocondrial. Isso significa que, por unidade de tempo, uma molécula de DNA mitocondrial replica-se mais vezes quando comparada às moléculas de DNA presentes no núcleo. Também conta o fato de que o DNA mitocondrial não está organizado em nucleossomos, enrolado em histonas, como estão organizados os cro-mossomos que estão no núcleo, o que pode aumentar a vulnerabilidade a danos.

O DNA MITOCONDRIAL E SUA RELAÇÃO COM O ENVELHECIMENTO

Vários estudos estabeleceram uma correlação importante entre a ocorrência de mutações no DNA mitocondrial presente em tecidos somáticos dos humanos e de diversos animais e a sua idade. Os dados servem de base para a sustentação de um conjunto muito interessante de ideias sobre o papel da

Antibióticos - Substâncias com ação antimicrobiana, produzidas por seres vivos, que agem em pequenas concentrações. A rigor, o termo deve ser aplicado somente a substâncias naturalmente produzidas por seres vivos, mas popularmente acabou sendo utilizado tanto para designar substância naturais como artificialmente sintetizadas em laboratório.

Aminoglicosídeos - Grupo de fármacos utilizados em tratamento de várias infecções bacterianas com estrutura química derivada de carbohidratos. São medicamentos bactericidas que geralmente atuam inibindo a síntese proteica das bactérias. São fármacos desta classe a estreptomicina, canamicina, gentamicina, tobramicina, amicacina, netilmicina, arbucacina, neomicina, paromomicina e aparmicina.

Espécies reativas de oxigênio - é um termo abrangente utilizado para descrever moléculas com propriedades químicas e reatividades muito distintas entre si. Na cadeia de fosforilação oxidativa, frequentemente, o termo EROS é usado para descrever o radical ânion superóxido (O_2^-), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila ($\cdot OH$) que são intermediários da redução do oxigênio molecular (O_2) presente na atmosfera à água (H_2O). A principal fonte celular de EROS na célula são as mitocôndrias, como resultado de perdas de elétrons na cadeia transportadora. Em excesso, EROS podem causar danos cumulativos no DNA, inclusive mutações.

Em outros casos, fatores ambientais são muito importantes na manifestação do quadro. Em algumas formas de surdez de herança mitocondrial, o quadro clínico é muito agravado se o indivíduo receber tratamento com certos medicamentos. Esse é um exemplo realmente notável na genética humana do papel do ambiente na manifestação de uma característica hereditária: algumas mutações no DNA mitocondrial, no gene que codifica o RNA ribossômico mitocondrial 12S, aumentam muito a susceptibilidade dos indivíduos a manifestarem perda de audição. Dentre essas, a mutação mitocondrial m.1555A>G é a mais frequente. Mais ainda, a perda de audição, que normalmente é progressiva e de instalação tardia, pode ser antecipada e se instalar de modo muito grave se o indivíduo com a mutação receber tratamento com **antibióticos** ou quimioterápicos (antibióticos sintéticos) do grupo dos **aminoglicosídeos**. Apesar desses antibióticos terem uso restrito a situações de risco de morte no ambiente hospitalar, a identificação dessa mutação tem importância no aconselhamento genético e na prevenção de novos casos na família. Supõe-se que essa substituição, que acarreta uma troca de base no RNAr mitocondrial, torna o ribossomo mitocondrial mais semelhante em sua estrutura ao ribossomo bacteriano ancestral, aumentando sua afinidade pelos antibióticos aminoglicosídeos. O mecanismo de ação dos aminoglicosídeos é a inibição da síntese proteica bacteriana. Assim, curiosamente, o ribossomo mitocondrial passa a ser afetado pelo medicamento de modo análogo ao que ocorre com o ribossomo bacteriano.

Além disso, não podemos nos esquecer que existem cerca de 1500 proteínas importantes ao funcionamento da mitocôndria e que somente 13 delas são codificadas pelo DNA mitocondrial. Isso significa que variações genéticas em centenas ou milhares de genes nucleares que codificam produtos proteicos que atuam na mitocôndria podem ajudar a amenizar ou a piorar os quadros de disfunção mitocondrial decorrentes dessas doenças. Em outras palavras, o genótipo do indivíduo em genes nucleares também é importante na função mitocondrial e influencia a manifestação das doenças.

CONCEITOS EM GENÉTICA

mitocôndria e do DNA mitocondrial no envelhecimento celular.

A observação de que indivíduos mais idosos têm maior frequência de DNA mitocondrial mutado do que os mais jovens levanta a seguinte questão: as mutações no DNA mitocondrial são uma das causas do envelhecimento das células e do organismo, ou são simplesmente uma consequência, um efeito colateral desse envelhecimento?

Esse conjunto de ideias ficou conhecido na literatura como “teoria mitocondrial do envelhecimento” ou “teoria do envelhecimento mitocondrial”. De acordo com a teoria, as espécies reativas de oxigênio produzidas na cadeia de fosforilação oxidativa que ocorre na mitocôndria para produzir ATP têm alta probabilidade de mutar o DNA mitocondrial com o passar do tempo. Como o DNA mitocondrial codifica elementos importantes da cadeia de transporte de elétrons, os danos produzidos ao DNAmt, se não devidamente reparados, levam a mutações que provocam deficiência bioenergética. Então, supõe-se que, com o avanço da idade, a cadeia de fosforilação oxidativa torna-se cada vez mais ineficiente e produz mais espécies reativas de oxigênio. Sob esse raciocínio, o DNA mitocondrial acumula cada vez mais mutações com o passar do tempo. Então, a cadeia de fosforilação oxidativa também se torna mais ineficiente e mais espécies reativas de oxigênio são produzidas alterando o DNA mitocondrial. O resultado desse círculo vicioso são mitocôndrias cada vez mais disfuncionais em células com déficit bioenergético e mitocôndrias tão danificadas que desencadeiam processos de apoptose, dos quais resulta a morte celular em vários tecidos e órgãos.

A observação de que indivíduos mais idosos têm mais mutações no DNA mitocondrial favoreceu essa hipótese, mas, para colocar a hipótese em teste, foram desenvolvidas linhagens de camundongos geneticamente modificados que receberam uma versão mutada do gene nuclear que codifica a polimerase Gama, enzima que replica o DNA mitocondrial dos mamíferos. A mutação no gene que codifica essa enzima aboliu a capacidade da enzima de corrigir seus erros de incorporação de nucleotídeos na replicação.

O resultado previsto e confirmado dessa manipulação foi a produção de uma linhagem de camundongos com elevadas taxas de mutações mitocondriais em seus tecidos somáticos. Os camundongos apresentaram, conforme esperado, diversos sinais de aceleração do envelhecimento biológico, como por exemplo, perda de peso, perda de musculatura, escoliose e perda de pelos. O modelo animal confirmou a relação entre elevadas taxas de mutação no DNA mitocondrial e envelhecimento orgânico. No entanto, a teoria do envelhecimento mitocondrial previa que tais animais teriam uma produção aumentada de espécies reativas de oxigênio, o que não foi constatado. Os autores desses estudos e de outros estudos então propuseram que os sintomas dos camundongos relacionados ao envelhecimento eram devidos ao aumento da taxa de apoptose em vários tecidos.

Os camundongos com defeitos de polimerase Gama são conhecidos na literatura como camundongos *mutators* e até hoje são intensamente estudados no que diz respeito a aspectos bioquímicos, celulares e fisiológicos do envelhecimento. Em um estudo recente foi demonstrado que o treinamento intenso dos camundongos com **exercícios aeróbicos** reverteu diversos sintomas do envelhecimento.

Mitocôndrias mais íntegras e saudáveis, assim como um quadro de saúde global melhor, foram observados nos camundongos treinados quando comparados aos não treinados. Esses resultados são muito importantes porque reforçam o papel importante do exercício físico na manutenção da saúde e da longevidade.

MUTAÇÕES NO DNA MITOCONDRIAL REVELAM A SUA ORIGEM GEOGRÁFICA

Tendo em vista o fato de que a herança do DNA mitocondrial nos humanos é uniparental e exclusivamente materna, a consequência biológica desse fenômeno é a de que duas mutações mitocondriais germinativas que ocorreram em indivíduos distintos, jamais estarão presentes em um mesmo indivíduo, de modo a permitir que ocorra recombinação entre elas. Ou seja, novas mutações ocorrem no DNA mitocondrial e são

Exercícios aeróbicos -

Termo usado para descrever exercícios com elevado consumo de oxigênio, com força de contração muscular mais reduzida e com mais elevada dependência da produção de energia pela mitocôndria, em comparação a outras formas de exercício. Considera-se que este tipo de exercício melhora a utilização de oxigênio e aumenta a biogênese de mitocôndrias no músculo esquelético.

Haplótipo - combinação de alelos em mais de um lócus cromossômico situados na mesma molécula de DNA, ou seja, em um mesmo cromossomo. O termo se aplica aos alelos em lócus vizinhos situados em um mesmo cromossomo de um par de homólogos ou situados em moléculas de DNA com transmissão uniparental, como é caso do DNA mitocondrial e do DNA do cromossomo Y.

transmitidas pela linhagem materna e todos os descendentes as herdam. Se uma segunda mutação ocorrer numa certa linhagem, constituirá um novo **haplótipo** mitocondrial que jamais se recombinará com outro haplótipo que surgiu em outra linhagem. Por causa dessa falta de recombinação, os haplótipos nessas moléculas acumulam diversidade genética somente pelo mecanismo da mutação.

Existe, na verdade, maquinaria capaz de promover molecularmente a recombinação entre moléculas de DNA mitocondrial, mas para que a recombinação tenha qualquer efeito genético no organismo, ou qualquer consequência evolutiva para a população, ela deve ocorrer entre duas moléculas de DNAmt que tenham diferentes combinações de mutações, ou seja, de diferentes haplótipos, derivadas de dois indivíduos distintos. Para isso ocorrer, deveria ocorrer transmissão paterna de DNA mitocondrial, o que não ocorre normalmente na nossa espécie. Por isso, o impacto de eventos de recombinação que tenham ocorrido no DNAmt é considerado desprezível, irrelevante do ponto de vista da biologia evolutiva.

O acúmulo de sucessivas mutações casuais no DNAmt, seguido de eventos de migração, seleção e adaptação levou à produção de agrupamentos regionais de haplótipos relacionados, os chamados haplogrupos. Em

outras palavras, a reconstrução filogenética detalhada, levando em conta todas as variantes presentes nos genomas mitocondriais dos humanos atuais, levou à classificação atual em haplótipos e ao agrupamento de haplótipos similares que compartilham algumas mutações características, em haplogrupos mitocondriais. A reconstrução permitiu também correlacionar a ocorrência dos haplogrupos com sua distribuição geográfica e a compreender melhor como e quando os haplogrupos dispersaram-se pelo planeta desde a origem dos humanos modernos, há cerca de 200 mil anos. Assim, o estudo das sequências de DNA mitocondrial de um ser humano permite sua classificação em um haplogrupo, o que permite inferir sua origem geográfica. Por exemplo, entre os brasileiros atuais, população com elevado nível de miscigenação, é possível identificar a presença de DNA mitocondrial classificado em haplogrupos característicos de nativos americanos (indígenas), de europeus e de africanos (Figura 3). A classificação das sequências de DNAmt em haplótipos e haplogrupos é muito importante em estudos sobre a ancestralidade das populações.

Além disso, o estudo da molécula de DNA mitocondrial, cuja sequência nucleotídica pode variar muito entre indivíduos da mesma população, é muito útil em estudos genéticos forenses e **análises de vínculo genético**.

Análises de vínculo genético - Termo utilizado para descrever as análises, principalmente baseadas no estudo da molécula de DNA, que buscam investigar as relações de parentesco entre indivíduos, por exemplo, a investigação de paternidade ou maternidade.

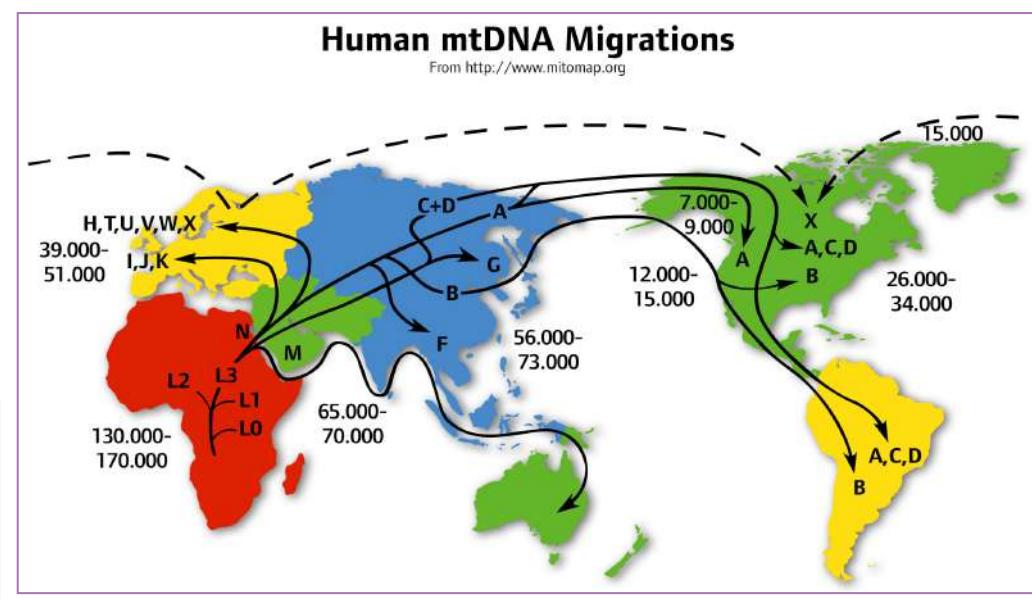


Figura 3.

Distribuição dos haplogrupos mitocondriais nos diferentes continentes, incluindo a estimativa da época da chegada de cada um deles a cada região geográfica. Fonte <http://www.mitomap.org>.

EXISTIU UMA EVA MITOCONDRIAL?

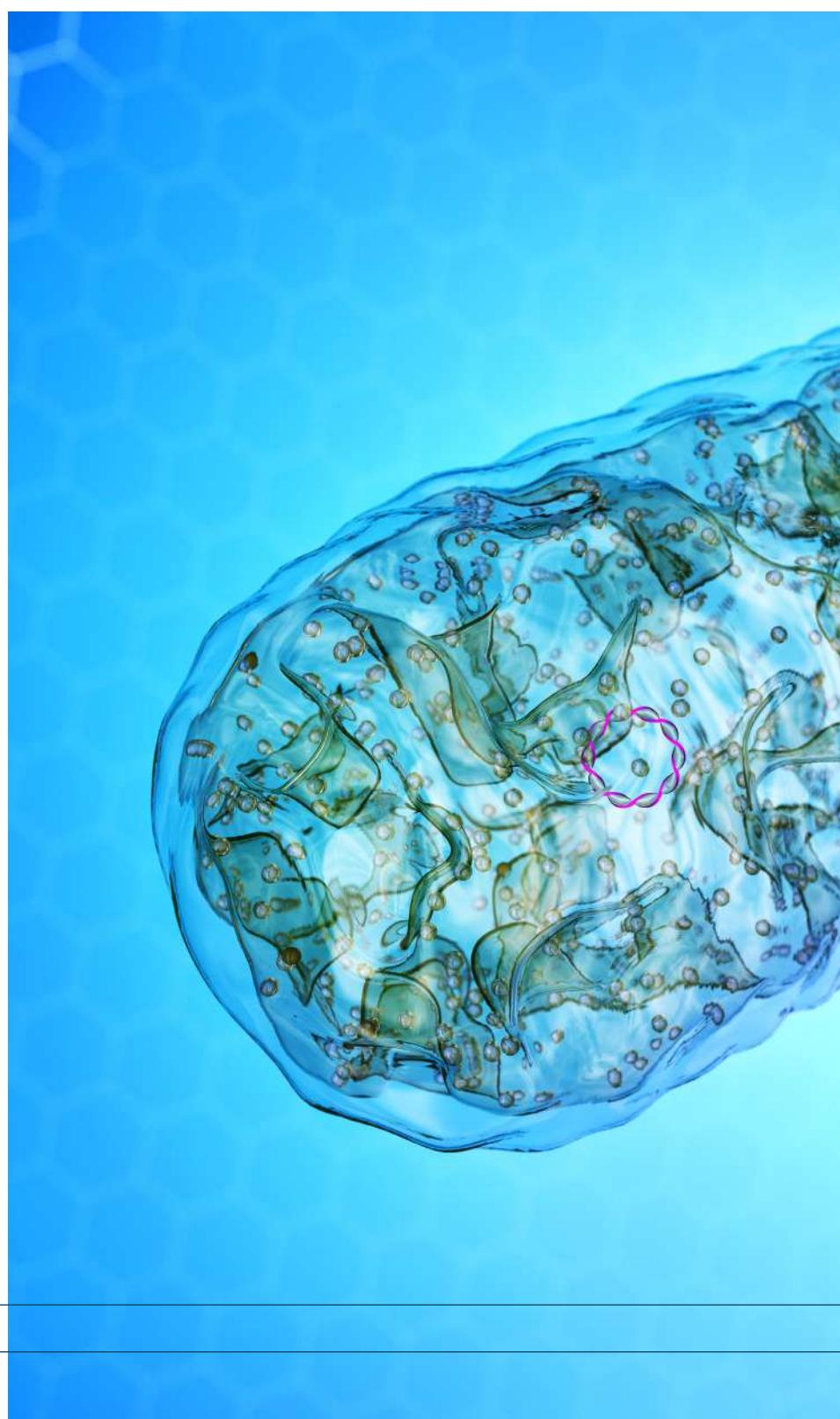
Estudos filogenéticos das sequências de DNA mitocondrial dos humanos dispersos por todas as regiões do planeta permitiram estimar há quanto tempo e onde ocorreu a molécula de DNAmt ancestral de todas as linhagens que existem hoje. Esse tipo de estudo permitiu estimar o TMRCA (do inglês, *time of the most recent common ancestor*, tempo do mais recente ancestral comum) em cerca de 172 mil anos. Os estudos também apontam a África como o local de origem das linhagens mais antigas. O primeiro estudo desse tipo foi realizado por Cann, Stoneking e Wilson em 1987. Os resultados desses autores sugeriram que o DNAmt ancestral de todos os humanos datava de cerca de 200 mil anos. Na época, o resultado levou a muito alarde e também a muitas interpretações, algumas um pouco fantasiosas. O fato do editorial da própria revista científica Nature, revista na qual o artigo foi publicado, ter se referido ao achado como “Eva mitocondrial” acabou por levar a que se tivessem conclusões por parte de leigos que não correspondiam exatamente às que o trabalho permitia tecer. O fato de a linhagem de DNAmt ancestral de todos os humanos que vivem hoje ter ocorrido há 172 mil anos não significa que essa foi a única que existia no planeta naquela ocasião. Outras poderiam estar presentes, mas foram extintas e não deixaram representantes na atualidade. Também não significa que uma única mulher tinha essa sequência de bases no DNAmt, ou que uma única mulher deu origem a todos os seres humanos atuais, como a Eva dos textos bíblicos. A sequência poderia estar presente em muitas mulheres simultaneamente. De qualquer modo, esse e vários outros resultados científicos nessa linha que vieram depois foram muito importantes para a compreensão que temos hoje sobre as origens e as dispersões que ocorreram nas populações humanas modernas desde seu aparecimento.

Em resumo, a pequena molécula de DNA mitocondrial, com características genéticas tão peculiares, trouxe importantes contribuições ao nosso conhecimento em muitos cam-

pos diferentes das ciências que se integram na sua investigação, como, por exemplo, biologia celular de doenças e do envelhecimento, biologia da reprodução, microbiologia, evolução da célula eucariótica, antropologia, evolução e genética das populações de várias espécies, incluindo os humanos.

AGRADECIMENTOS

Aos colegas Dr. Diogo Meyer e Dr. Luis Eduardo Soares Netto pelas sugestões que contribuíram à melhoria do manuscrito.



PARA SABER MAIS

- ANKEL-SIMONS, F.; CUMMINS, J. M. Misconceptions about mitochondria and mammalian fertilization: implications for theories on human evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci.* v. 93, p.13859-13863, 1996.
- CANN, R. L.; STONEKING, M.; WILSON A. C. Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature* v. 325, p. 31-36, 1987.
- DI MAURO, S.; SCHON, E. A. Mitochondrial respiratory Chain Diseases, *N. Engl J Med* v. 348, p. 2656-68, 2003.



- ESTIVILL X.; GOVEA, N.; BARCELÓ, A.; PERELLÓ, E.; BADENAS, C.; ROMERO, E.; MORAL, L.; SCOZZARI, R.; DÚRBANO, L.; ZEVIANI, M.; TORRONI, A. Familial progressive sensorineural deafness is mainly due to the mtDNA A1555G mutation and is enhanced by treatment with aminoglycosides. *Am J Med Genet* v. 62, p. 27-35, 1998.
- JOBLING, M. A.; HOLLOWES, E.; HURLES, M.; KIVISILD, T.; TYLER-SMITH, C. *Human evolutionary genetics*. Second Edition, 2014, New York, Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC.
- MARGULIS, L. The origin of plant and animal cells. *The American Scientist* v.59, p. 230-235, 1971.
- MARTIN, G. M.; LOEB, L. A. Mice and mitochondria. *Nature* v. 429, p. 357-359, 2004.
- SAFDAR, A.; BOURGEOIS, J. M.; OGBORN D. I.; LITTLE J. P.; HETTINGA, B. P.; AKHTAR, M.; THOMPSON, J. E.; MELOV, S.; MOCELLIN, N. J.; KUJOTH, G. C.; PROLLA, T. A.; TARNOPOLSKY, M. A. Endurance exercise rescues progeroid aging and induces systemic mitochondrial rejuvenation in mtDNA mutator mice. *PNAS* v. 108 p. 4135-4140, 2011.
- SATO, M.; SATO, K. Maternal inheritance of mitochondrial DNA by diverse mechanisms to eliminate paternal mitochondrial DNA. *Biochimica et Biophysica Acta* v. 1833, p.1979-1984, 2013.
- SUTOVSKY, P.; MORENO, R. D.; RAMALHO-SANTOS, J.; DOMINKO, T.; SIMERLY, C.; SCHATTEN, G. Ubiquitin tag for sperm mitochondria. *Nature* v. 402, p. 371, 1999.
- TAYLOR, R. W.; TURNBULL, D. M. Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Nature Reviews Genetics* v. 6, p. 389-402, 2005.
- THRASH, J. C.; BOYD, A.; HUGGETT, M. J.; GROTE, J.; CARINI, P.; YODER, R. J.; ROBBERTSE, B.; SPATAFORA, J. W.; RAPPÉ, M. S.; GIOVANNONI, S. J. Phylogenomic evidence for a common ancestor of mitochondria and the SAR11CLADE. *Scientific Reports* v. 1, n.13, p.1-9, 2011.
- WALLACE, D. C. A mitochondrial bioenergetics etiology of disease. *J Clin Invest*, v. 123, n. 4, p. 1405-1412, 2013.

PORTAL RECOMENDADO

<http://www.mitomap.org>

Evolução em campo: uma prática de ensino de evolução

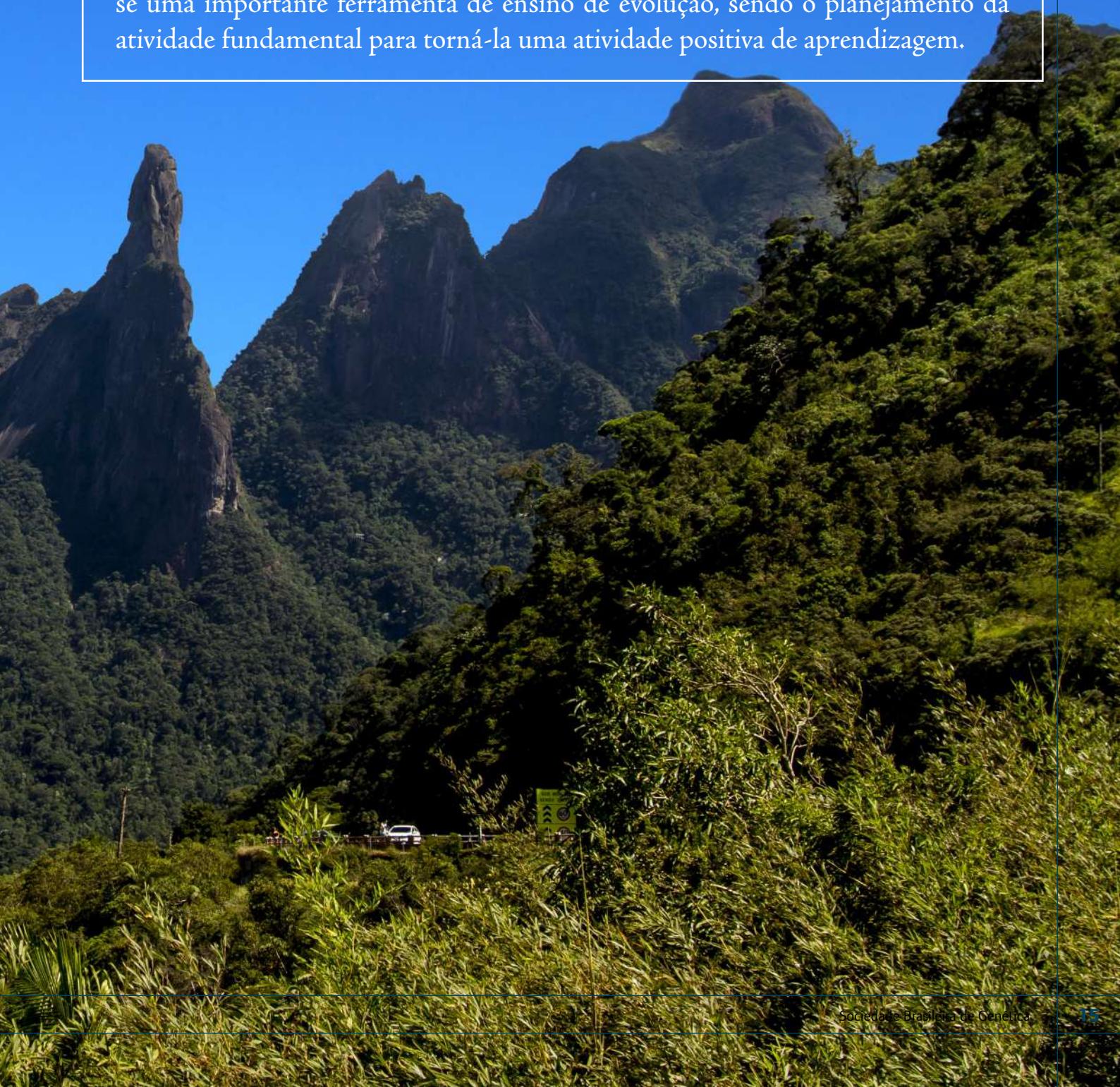
Paulo Ricardo Alves, Edson Pereira da Silva

Universidade Federal Fluminense, Departamento de Biologia Marinha, Niterói, RJ

Autor para correspondência: gbmedson@vm.uff.br



A maior fonte de evidências do fenômeno evolutivo é a natureza, portanto, as excursões didáticas são uma boa alternativa para o ensino dessa teoria. Entretanto, o sucesso desse tipo de atividade depende, em grande parte, de objetivos claros e um bom planejamento. Este trabalho descreve o planejamento e a execução de uma excursão didática realizada no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro. A atividade é composta de aulas teóricas, aulas práticas, excursão propriamente dita e relatório de viagem, sempre acompanhados de roteiros com questões que visam nortear a atividade dos alunos. A excursão a campo mostrou-se uma importante ferramenta de ensino de evolução, sendo o planejamento da atividade fundamental para torná-la uma atividade positiva de aprendizagem.



NA SALA DE AULA

Os mecanismos pelos quais a evolução biológica atua como processo formador da biodiversidade são bem compreendidos na atualidade, contudo, esses mecanismos e processos não são de fácil compreensão para um público leigo nem mesmo por estudantes de biologia em vários níveis. Desta forma, a utilização de estratégias didáticas diversificadas surge como uma ferramenta para o ensino da teoria através de atividades práticas para o ensino de Evolução.

Nesse sentido, as excursões didáticas a ambientes naturais consistem em uma estratégia importante uma vez que os alunos podem observar diretamente os efeitos da evolução biológica. Excursões a campo, bem como qualquer atividade prática, são importantes ferramentas de ensino para qualquer disciplina, contudo, uma das grandes limitações das excursões didáticas está na dificuldade de elaboração e planejamento dessas atividades. Obstáculos como autorizações para visitação, tempo de deslocamento, conhecimento da região, entre outros, precisam ser resolvidos na elaboração de tais atividades. Planejamentos falhos podem afetar a aprendizagem, além da relação do aluno com o professor e com a disciplina. A complexidade que envolve uma aula em campo, na qual os alunos se deparam com uma grande quantidade de variáveis, pode ser uma limitação severa à realização desse tipo de atividade, dessa forma, atividades dessa natureza requerem o estabelecimento de objetivos claros e um professor bem preparado.

Neste trabalho são descritos o planejamento e a execução de uma atividade de campo que tem ocorrido, desde 2002, como parte das atividades práticas da disciplina de Evolução do curso de graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal Fluminense (UFF, Niterói, RJ). O objetivo é relatar as experiências obtidas com o desenvolvimento dessa prática, oferecendo uma base para a elaboração de excursões didáticas para o ensino de evolução biológica.

PLANEJAMENTO

A atividade é dividida em quatro momentos: (I) Aulas teóricas, nas quais os conceitos de Seleção Natural e Adaptação são abordados; (II) Aula práticas no laboratório, nas quais

os alunos são levados a simular os efeitos da Seleção Natural sobre as frequências gênicas a partir de um jogo didático e solicitados a descrever os mecanismos que geram determinadas adaptações a partir da observação e descrição de exemplares biológicos; (III) Excursão ao campo, composta de viagem ao Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO) para observação *in situ* do ambiente e coleta de dados sobre os padrões de biodiversidade observados e (IV) Relatório de viagem que é uma aula na qual as observações e os dados obtidos pelos alunos na excursão são interpretados.

AULAS TEÓRICAS

Essas aulas são realizadas duas semanas antes da excursão e nelas são discutidos os conceitos de Seleção Natural e Adaptação. São apresentados os mecanismos pelos quais atua o processo evolutivo, além de ser discutido o conceito de adaptação. Estes conceitos são importantes para orientar as observações que os alunos farão em campo, uma vez que constituem um plano de fundo conceitual necessário para a realização da excursão didática.

As aulas são orientadas a partir do que Krashik (2008) chama de convite ao raciocínio: começam como uma discussão informal destes dois tópicos a partir de perguntas propostas aos alunos. Desse modo, o professor atua como um mediador levantando questões que promovem um debate com a turma, permitindo que algumas preconcepções dos alunos sejam identificadas. A existência de preconcepções e de concepções alternativas constitui um dos principais desafios para o ensino de evolução. O uso de técnicas que possibilitem uma participação ativa dos alunos na aula permite a discussão das contradições a partir da apresentação dos conceitos evolutivos, abrindo espaço para a desconstrução dessas preconcepções.

AULA PRÁTICAS

O objetivo principal das atividades práticas é apresentar aos alunos modelos daquilo que lhes foi apresentado nas aulas teóricas. Na aula de Seleção Natural é realizado um jogo de simulação da ação dessa força sobre as frequências gênicas de uma população



ao longo das gerações. O jogo é composto por uma população (representada por um recipiente opaco) com dois alelos (representado por 100 bolinhas de duas cores distintas, no caso 50 verdes representando o alelo A1 e 50 vermelhas representando o alelo A2) e uma segunda população chamada de população de reposição (um segundo recipiente opaco com 50 bolinhas verdes). O jogo consiste em retirar da população, ao acaso, uma bolinha por vez e, considerando que um genótipo é constituído de um par de bolinhas, obter uma amostra (prole – F1) de 40 indivíduos. Toda vez que um indivíduo apresentar o genótipo A2A2 (vermelho/vermelho) este deve ser desconsiderado, ou seja, não deve ser usado no cálculo das frequências, simulando, assim,

o processo de seleção natural (mortalidade de um genótipo específico em detrimento dos outros genótipos = mortalidade diferencial). Terminada esta etapa, é pedido que sejam calculadas as frequências alélicas da nova população para que, utilizando a população de reposição, o recipiente da população seja ajustado a fim de possuir as frequências da F1. Todo o procedimento é repetido a partir dessa nova população obtendo, assim, novas gerações (de F2 até F6). É fornecido um roteiro-guia aos alunos para os cálculos de frequências gênicas e genotípicas e de valores adaptativos. O roteiro possui também um conjunto de perguntas com as quais se espera que os alunos formulam explicações para os resultados observados (Quadro 1).

Quadro 1.

Questões do roteiro de aula prática sobre Seleção Natural e o objetivo esperado para cada questão.

Tipo	Questões	Objetivo
Cálculos	<p>Calcule as frequências do alelo A2 ($= q = \text{vermelho}$) e a diferença de frequência entre as gerações.</p> <p>Construa um gráfico onde, no eixo x estejam as gerações e, no eixo y, as frequências alélicas.</p>	<p>Observar como se comporta a frequência do alelo deletério ao longo das gerações.</p>
	<p>Calcule as frequências genotípicas esperadas em todas as gerações usando $p^2+2pq+q^2=1$.</p> <p>Calcule os valores adaptativos dos genótipos envolvidos.</p> <p>Converta os valores adaptativos em valores adaptativos relativos.</p>	<p>Observar que os valores adaptativos de cada genótipo oscilam de acordo com as frequências gênicas.</p>
	<p>Com as informações anteriores, calcule o valor adaptativo médio da população.</p>	<p>Perceber que o valor adaptativo da população tende a aumentar com a diminuição da frequência do alelo deletério.</p>
Conceptuais	<p>O que acontecerá ao longo de muitas gerações se esse processo prosseguir?</p> <p>Se o alelo A2 fosse dominante, quantas gerações seriam necessárias para que ele desaparecesse?</p> <p>Quais são os alelos mais afetados pela Seleção Natural, os dominantes ou recessivos? Por quê?</p>	<p>Usar o conceito de Seleção Natural para inferir o seu efeito sobre as frequências gênicas.</p>
	<p>Qual a tendência observada e como você explica os resultados obtidos?</p>	<p>Sintetizar os dados e desenvolver explicações evolutivas para o que foi observado.</p>

NA SALA DE AULA

Na aula de Adaptação é solicitado aos alunos que observem exemplares de sementes que apresentam estruturas especializadas para dispersão. A partir desses exemplares, os alunos são levados a inferir, através de um questionário, explicações para as diferenças nas estratégias dispersivas de sementes (no caso, 3 espécies são **anemocóricas** e outras 3, **zoocóricas**), bem como perceber que mesmo espécies com a mesma estratégia não são idênticas na morfologia (Quadro 2).

Em ambas as aulas os alunos são organizados em grupos de 4 a 6 pessoas de modo que possam debater suas explicações e desenvolver o raciocínio em conjunto. Essas aulas, que possuem duração de 2 horas, são acompanhadas tanto pelo professor quanto por monitores de modo a auxiliarem os alunos a chegarem às conclusões esperadas para cada atividade.

A EXCURSÃO

A atividade de campo ocorre no PARNASO - Sede de Guapimirim, localizado na

região serrana do estado do Rio de Janeiro. A viagem ao local é realizada por meio de ônibus que conduz alunos, professor e monitores numa viagem com duração em torno de 2 horas. Durante a viagem os alunos recebem um roteiro das atividades que terão que realizar uma vez chegados ao parque, bem como informações a respeito de como se comportar no local em termos das leis que regem os parques nacionais do Brasil, os cuidados referentes à atividade no ambiente natural e o tempo disponível para execução das suas atividades. Uma vez no parque, os alunos iniciam as atividades livremente, embora disponham da presença do professor e dos monitores para auxiliá-los nas possíveis dúvidas quanto as observações e a coleta de dados. Mais uma vez os alunos são organizados em grupos (os mesmos para todas as aulas práticas da disciplina) e a duração média da atividade em campo é de cerca de 6 horas. O PARNASO - Sede de Guapimirim possui trilhas consideradas fáceis e a mais longa, a que os alunos têm acesso, não passa de 20 minutos de caminhada.

Anemocoria - (Do grego anemo = vento; coria = exportar, difundir) Termo usado em Botânica para definir a dispersão (fruto, semente, esporo etc.) pela ação do vento. Anemocóricas são sementes (ou frutos, esporos etc.) que são dispersas pelo vento.

Zoocoria - (Do grego zoo = animal; coria = exportar, difundir) Zoocoria é um termo usado em Botânica para definir a dispersão de sementes (ou frutos, esporos etc.) pela ação de animais, desde que não sejam aves (ornitocoria) ou formigas (mimerocoria). A zoocoria é dividida em epizoocoria (quando a dispersão é feita por sementes que aderem aos pelos dos animais) ou endozocoria (quando as sementes são ingeridas pelos animais e depois dispersas nas fezes). Portanto, zoocóricas são sementes (ou frutos, esporos etc.) que são dispersas por animais.

Quadro 2.

Questões do roteiro de aula prática sobre Adaptação e o objetivo esperado para cada questão.

Questões	Objetivos
Defina ou classifique o material biológico observado. O que eles têm em comum?	Observar que todas possuem adaptações para a dispersão.
No que diferem? Forme grupos de semelhança e defina o critério utilizado.	Perceber que as estratégias não são as mesmas e que a Seleção Natural atua apenas sobre a variação já presente na população.
Explique como podem ter surgido as diferenças dentro de cada grupo.	Elaborar explicações evolutivas para as diferenças observadas.

A atividade é baseada em observações, tanto de características morfológicas quanto do próprio ambiente, o que faz com que os únicos fenômenos que possam ser deduzidos sejam Seleção Natural e Adaptação, por isso as aulas teóricas e práticas anteriores são fundamentais para que a atividade suplante aquilo que Chinn; Malhotra (2002) defi-

niram como “*simple inquiry tasks*” (Tarefas simples de pesquisa) e se aproximem de um “*authentic scientific inquiry*” (Pesquisas científicas autênticas). Contudo, é importante ressaltar que o objetivo básico desta atividade não é produzir novos conhecimentos científicos, mas facilitar a aprendizagem de um conhecimento científico já consolidado a

partir de um ensino mais interativo e dialógico, rompendo com discursos autoritários, prescritivos e dogmáticos. Bizzo e El-Hani (2009) argumentam que a observação de efeitos da macroevolução (Especiação e Biodiversidade) permite uma construção mais apropriada da biologia evolutiva, uma vez que os alunos podem relacionar o fenômeno com características que podem ser observadas no meio ambiente. Assim, sabendo que a seleção natural e a adaptação são processos que geram padrões observáveis de taxo-

noma e sistemática, esta atividade baseia-se no pressuposto de que é possível deduzir os processos quando são observados os padrões (Figura 1): Sabendo-se (Aulas Teóricas e Aulas Práticas) que a “Seleção Natural” gera “Adaptações” (processos) e que estas podem estar envolvidas na “especiação”, deduz-se que toda a biodiversidade está unida por relações de parentesco ou “filogenia” (padrões). O que se pede é que os alunos, ao observarem os Padrões (Excursão à Campo), possam deduzir os processos (Relatório de Viagem).

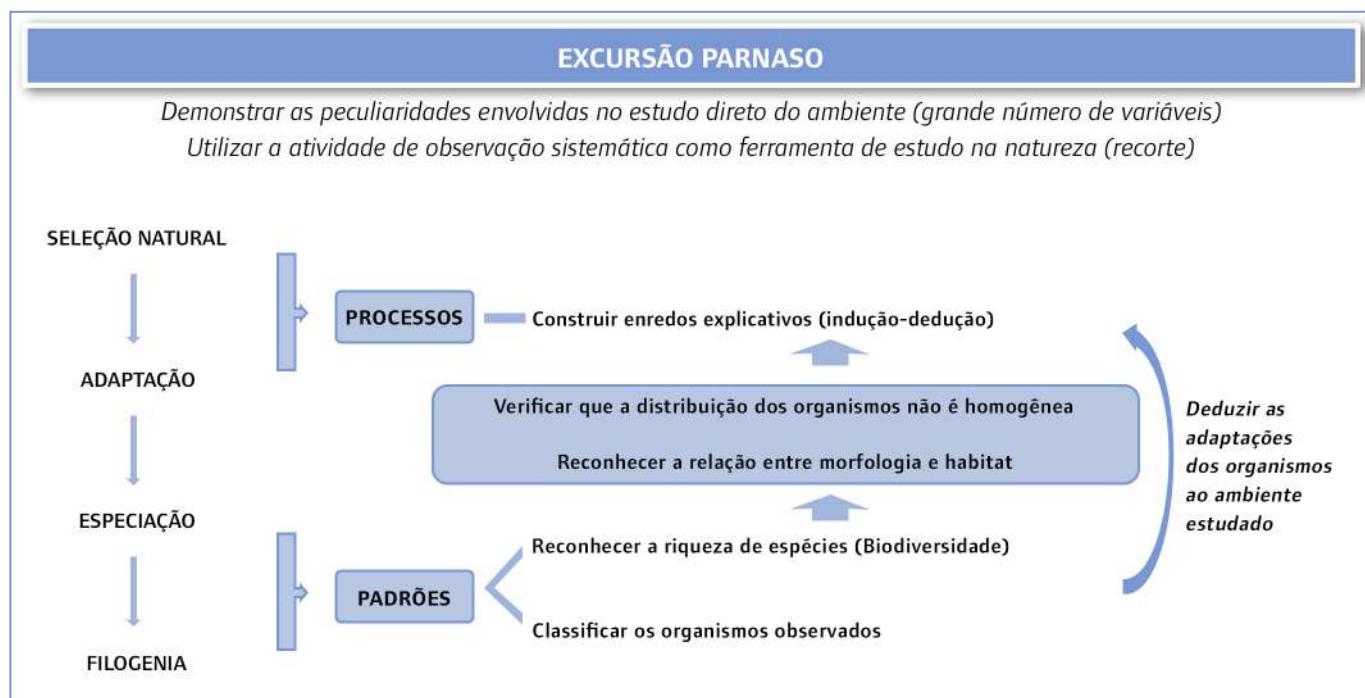


Figura 1.

Resumo do argumento geral da atividade de campo.

A excursão é desenvolvida de modo que os alunos possam observar padrões de distribuição da biodiversidade e, mais importante ainda, percebam que esses padrões não são aleatórios, mas sim resultado da história evolutiva das espécies ali presentes. Para que isso seja possível é oferecido a eles um roteiro que apresenta questões que buscam fazer com que os alunos observem o ambiente a sua volta, comparem os ambientes que constituem o parque (clareira, córrego, mata fechada etc.) com a biota presente e classifiquem os organismos observados (Quadro 3).

Outro material elaborado para apoiar essa prática é um catálogo de *taxa* já observados

pelos alunos no PARNASO em excursões anteriores. A cada excursão é pedido aos alunos que listem os organismos observados (Animais, Plantas e Fungos), façam sua classificação taxonômica, bem como registrem todas as observações em fotografias, desenhos ou esquemas. Todo esse material foi organizado em uma listagem taxonômica geral e fichas catalográficas com informações de cada organismo observado. Essa listagem geral remete, como um índice, às fichas catalográficas as quais possuem informações sobre morfologia, habitat e localização no PARNASO, além de uma foto do organismo e referências bibliográficas para mais

NA SALA DE AULA

informações. Por se tratar de um material cujo conteúdo dependeu do acúmulo de informação adquirida ao longo do tempo, ele não foi oferecido para todas as turmas, sendo disponível apenas para as últimas turmas, quando já existia informação suficiente para a sua elaboração. Esse catálogo, portanto, é um trabalho em processo que os alunos da disciplina vão construindo a cada período.

Esse material é impresso e entregue aos alunos juntamente com roteiro de atividade, de modo que os alunos possam reconhecer o que estão vendo no parque e proceder ao trabalho de observação, registro, classificação, pesquisa e catalogação. Esse catálogo é devidamente analisado e corrigido pelos monitores e professor sofrendo, assim, atualização semestral (Figura 2).

Quadro 3.

Questões do roteiro de aula de campo e do relatório de viagem realizado em sala de aula, além dos objetivos esperados para as questões propostas.

Local	Questões	Objetivo
Campo	É possível observar diferentes ambientes no Parque? Quais são eles?	Perceber os diversos habitat e microambientes presentes no Parque.
	Liste os organismos observados, classifique-os e faça uma breve descrição morfológica.	Compilar informações sobre os organismos observados.
	Calcule o esforço observacional do grupo. Calcule o esforço observacional de todos os grupos em relação à biodiversidade registrada para o parque.	Perceber que a qualidade da informação depende do esforço observacional
	Estabeleça relações entre a morfologia e o ambiente em que esses organismos vivem.	Observar como a Seleção Natural está relacionada com características morfológicas por meio de pressões do ambiente.
Sala de aula	É possível estabelecer grupos de semelhança entre os organismos listados que possa ser explicado pelo ambiente em que vivem?	Observar convergências de estratégias evolutivas, notando que não existe um ideal para cada estratégia.
	É possível estabelecer, entre os grupos de semelhança, diferenças que sejam explicadas pelo ambiente ocupado?	
	Quais as explicações para essas observações?	Relacionar a Seleção Natural com a adaptação e história evolutiva dos organismos.

A comparação dos resultados das avaliações da excursão antes e depois da utilização desse material indica que o percentual de aprovação da excursão saltou de 84,4% (média dos resultados da avaliação das sete excursões anteriores) para 94,1%, valor que se encontra próximo do máximo já obtido historicamente pela excursão. Mais importante do que isso, no entanto, é o fato de que, nas respostas dos alunos, houve uma redução considerável daqueles que alegavam não compreender integralmente os objetivos da prática. Esses resultados mostram que o material desenvolvido auxiliou a atividade de excursão permitindo que os objetivos da prática fossem bem alcançados, ou seja, houve melhor compreensão, por parte dos alunos, de alguns mecanismos que guiam a evolução biológica.

Ainda no âmbito da organização e do planejamento, a experiência acumulada com as excursões fez com que fossem feitas algumas alterações no roteiro de prática. Por exemplo, nas primeiras versões do roteiro, as perguntas eram mais gerais, solicitando que os alunos observassem o ambiente do Parque no geral, identificassem os diferentes ambientes e anotassem os organismos observados para cada um dos ambientes identificados. Este tipo de questão, embora com objetivos bem definidos (conceder a liberdade de exploração do ambiente), determinava que os alunos perdessem muito tempo em observações pouco precisas ou aleatórias. Desta forma, a versão atual do roteiro define *a priori* os ambientes a serem explorados, além de fornecer o catálogo como guia para as observações a serem realizadas. Assim, os alunos são imersos em um ambiente natural preservado, contudo, munidos de tarefas precisas a serem realizadas.

LISTAGEM TAXONÔMICA DOS ORGANISMOS ENCONTRADOS NO PARQUE NACIONAL DA SERRA DOS ÓRGÃOS

54. Beija Flor

CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA

Reino: ANIMALIA
Filho: MOLLUSCA
Classe: GASTROPODA
Ordem: STYLOMATOPHORA
Família: HELICIDAE

1. Caracol (...)
Filho: CHORDATA
Superclasse: PISCES

43. Peixe de fundo

Classe: ACTINOPTERYGII
Ordem: SILURIFORMES
Família: LORICARIIDAE

44. Peixe cascudo (...)
Classe: AVES
Ordem: PASSERIFORMES
Família: TYRANNIDAE
Gênero: *Pitangus*

51. *Pitangus sulphuratus* (Bem-te-vi)

Família: TURDIDAE
Gênero: *Turdus*

52. *Turdus rufiventris* (Sabiá-Laranjeira)

Família: EMBERIZIDAE
Gênero: *Sicalis*

53. *Sicalis flaveola* (Canário-da-Terra)

Ordem: TROCHILIFORMES
Família: TROCHILIDAE

54. Beija-Flor

Ordem: PSITTACIFORMES
Família: PSITTACIDAE
Gênero: *Pionus*

55. *Pionus maximiliani* (Maritaca)
(...)

NOMES VULGARES
Beija-Flor

MORFOLOGIA
Bico geralmente longo, língua bifurcada extensível. Baixa massa corporal, asas grandes em relação ao corpo. Cores variadas.

HABITAT
Originária das Américas e ocorre desde o Alasca até a Terra do Fogo, no extremo sul do continente, numa grande variedade de habitats. A maior biodiversidade da família encontra-se no Brasil e Equador que contém cerca de metade das espécies conhecidas de beija-flores.

LOCALIZAÇÃO NO PARNASO
Mata fechada; Margem da trilha.

OBSERVAÇÕES
Possui musculatura adaptada para permitir um vôo rápido e ágil, além de serem as únicas aves que conseguem permanecer imóveis durante o vôo ou voar para trás.

MAIS INFORMAÇÕES
<http://www.wikiaves.com.br/trochilidae>

LISTAGEM TAXONÔMICA DOS ORGANISMOS ENCONTRADOS NO PARQUE NACIONAL DA SERRA DOS ÓRGÃOS

65. Dicksonia sellowiana (Samambaiaçu)

CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA

Reino: PLANTAE
Divisão: PTERIDOPHYTA
Classe: PTERIDOPSIDA
Ordem: CYATHEALES
Família: DICKSONIACEAE
Gênero: *Dicksonia*
Espécie: *Dicksonia sellowiana*

NOMES VULGARES
Samambaiaçu

MORFOLOGIA
Possui caudice ereto, cilíndrico e frouzes bipenadas de até 2 metros.

HABITAT
Nativa da Mata Atlântica e América Central (especialmente dos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul).

LOCALIZAÇÃO NO PARNASO
Mata fechada; Clareira, Margem de trilha.

OBSERVAÇÕES
Foi inserida na lista de espécies ameaçadas de extinção pelo Ministério do Meio Ambiente (http://www.mma.gov.br/estruturas/179_arquivos/179_05122008034139.pdf)

MAIS INFORMAÇÕES
<http://pt.wikipedia.org/wiki/Dicksoniaceae>
<http://www.britannica.com/TBchecked/tpc/1461318/Dicksoniaceae>

1. Caracol (...)
Reino: PLANTAE
Sub-reino: EMBRYOPHYTA
Divisão: BRYOPHYTA (*sensu stricto*)

61. Musgo

Sub-reino: TRACHEOPHYTA
Divisão: LYCOPODIOPHYTA
Classe: LYCOPODIOPSIDA
Ordem: SELAGINELLALES
Família: SELAGINELLACEAE
Gênero: *Selaginella*

62. *Selaginella* sp.
Filho: PTERIDOPHYTA

63. Samambaia 01
64. Samambaia 02

Classe: PTERIDOPSIDA
Ordem: CYATHEALES
Família: DICKSONIACEAE
Gênero: *Dicksonia*

65. *Dicksonia sellowiana* (Samambaiaçu)

Superdivisão: SPERMATOPHYTA
Divisão: PINOPHYTA
Classe: PINOPSIDA
Ordem: PINALES
Família: ARAUCARIACEA
Gênero: *Araucaria*

66. Araucária
Divisão: MAGNOLIOPHYTA
Classe: MAGNOLIOSIDA
Ordem: VIOLALES
Família: BEGONIACEAE
Gênero: *Begonia*

Figura 2.

Ilustração do catálogo de taxa fornecido aos alunos para facilitar a observação da biodiversidade durante a excursão. A página à esquerda mostra uma seção da listagem taxonômica. A página à direita mostra um exemplo de ficha de taxon. O catálogo contém todos os taxa de Animais, Plantas e Fungos que já foram observados nas excursões realizadas pela disciplina ao PARNASO. Note que o número na listagem taxonômica é o mesmo da folha descriptiva do táxon.

RELATÓRIO DE VIAGEM

A excursão a campo é uma atividade de coleta de dados e esses dados são interpretados durante o relatório de viagem. Esse relatório é realizado dois dias após a ida ao PARNASO em sala de aula, sendo que, mais uma vez, os alunos dispõem de um roteiro no qual são solicitados a elaborar explicações evolutivas das suas observações a partir dos conceitos de adaptação e seleção natural discutidos (Quadro 3). A dinâmica de atividade em grupo é mantida e, assim como nas aulas práticas, essa atividade dura 2 horas e os alunos dispõem do auxílio do professor e de monitores para interpretar os dados.

AVALIAÇÃO

Para avaliar a influência dessa atividade no aprendizado dos alunos foi elaborada uma avaliação da disciplina. A avaliação é realizada ao fim do curso e permite que os alunos apresentem, de forma anônima, suas impressões, sugestões e críticas às diversas atividades realizadas durante a disciplina. Para tanto, eles são questionados sobre, entre outras coisas, a excursão a campo. As perguntas são: “Você gostou da excursão?”; “Você aprendeu alguma coisa com a excursão?”; “Que mudanças você sugere para a excursão?”

A partir dessas avaliações, foi observado que 82% dos alunos aprovaram a prática e 81% admitem ter aprendido com ela. Estes resultados apontam para o sucesso dessa estratégia como ferramenta de ensino dos temas abordados. Contudo, é necessário discutir parte das respostas negativas obtidas na avaliação. Até o ano de 2010, cerca de 10% dos alunos sugeriram alterações no que diz respeito à organização e ao planejamento da prática, apresentando questionamentos por não estarem sendo capazes de compreender bem quais eram os objetivos da excursão. Esse fato nos levou a desenvolver o catálogo dos organismos (descrito no subitem “excursão a campo”), que foi aplicado pela primeira vez no primeiro semestre de 2011. Esse catálogo, por possuir informações sobre o que os alunos podem observar no parque, permite direcionar as observações para aquilo que é desejado, evitando que os alunos se sintam perdidos na atividade ou que percam tempo com dados que não são de interesse para a aula. A partir da aplicação desse material, as sugestões que diziam respeito a falhas

na organização e planejamento, além de pouca clareza nos objetivos, caíram para 1,2%. Sendo assim, observamos que a existência de um material desse tipo tornou os objetivos mais claros e factíveis para os alunos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A inserção de atividades práticas de campo em ambientes naturais pode ser uma experiência produtiva de construção de conhecimento, aprendizagem, curiosidade, motivação e interesse pela aquisição de novos saberes pelos alunos, sendo especialmente relevante para alunos de licenciatura que podem reproduzir tais estratégias em suas futuras atividades profissionais.

A imersão dos alunos no ambiente natural permite que possam observar padrões de distribuição de organismos, além de características adaptativas, sendo a observação desses fenômenos uma forma de entender o processo evolutivo de forma mais concreta. Uma das citações mais conhecidas em textos sobre evolução diz que “*nada em biologia faz sentido exceto à luz da evolução*” (DOBZHANSKY, 1973). Essa posição evidencia a grande necessidade de informar bem os estudantes e oferecer ao público leigo noções sobre os processos e mecanismos da evolução biológica. No caso de biólogos em formação esta responsabilidade é especialmente dramática, uma vez que o desenvolvimento e o entendimento da própria ciência da Biologia está na dependência de uma melhor compreensão do processo evolutivo.

REFERÊNCIAS

- BIZZO, N.; EL-HANI, C. N. O arranjo curricular do ensino de evolução e as relações entre os trabalhos de Charles Darwin e Gregor Mendel. *Filosofia e História da Biologia*. v. 4, p. 235-257, 2009.
- CHINN, C. A.; MALHOTRA, B. A. Epistemologically Authentic Inquiry in Schools: A Theoretical Framework for Evaluating Inquiry Tasks. *Science Education*. v. 86, p. 175-218, 2002.
- DOBZHANSKY, T. Nothing in Biology makes sense except in the light of Evolution. *The American Biology Teacher*. v. 35(3), p. 125-129, 1973.
- KRASILCHIK, M. (2008). *Prática de Ensino de Biologia*. São Paulo: EDUSP, 2008.



PARA SABER MAIS

- ALTERS, B. J.; NELSON, C. E. Teaching Evolution in Higher Education. *Evolution*. v. 56(10), p. 1891-1901, 2002.
- MARANDINO, M.; SELLES, S. L. E.; Ferreira, M. S. (Org.). *Ensino de Biologia: Histórias e Práticas em Diferentes Espaços Educativos*. São Paulo: Cortez, 2009.
- MOREIRA, M. C. A.; SILVA, E. P. (1995). Ciência na escola: Como a criança vê a evolução dos seres vivos. *Ciência Hoje*. v. 19, n.114, p. 45-48, 1995. (Ver errata *Ciência Hoje*. v. 20, n.116, p. 4)
- MUNFORD, D.; LIMA, M. E. C. C. Ensinar ciências por investigação: em quê estamos de acordo? *Ensaio-Pesquisa em Educação em Ciências*. v. 9, n.1, p. 72-89, 2007.
- NELSON, E. C. Teaching evolution (and all of biology) more effectively: strategies for engagement, critical reasoning, and confront-
- ing misconceptions. *Integrative and Comparative Biology*. v. 48, n. 2, p. 213–225, 2008.
- RIDLEY, M. *Evolução*. Porto Alegre: Artmed, 2006.
- SANTOS, S. A excursão como recurso didático no ensino de Biologia e Educação Ambiental. Em: Faculdade de Educação da Universidade de São Paulo (Org.), *Anais do VIII Encontro Perspectivas do Ensino de Biologia*. São Paulo: FEUSP, 2002.
- SENICIATO, T.; CAVASSAN, O. Aulas de Campo em Ambientes Naturais e Aprendizagem em Ciências – Um Estudo com Alunos do Ensino Fundamental. *Ciência & Educação*. v. 10(1), p. 133-147, 2004.
- ZERVANOS, S. M.; McLAUGHLIN, J. S. Teaching Biodiversity and Evolution through travel course experiences. *The American Biology Teacher*. v. 65, n. 9, p. 683–688, 2003.



Ensinar Genética e Evolução por meio de jogos didáticos: superando concepções alternativas de professores de ciências em formação

Rita Campos^{1,2},
Maria da Conceição Vieira de Almeida Menezes³,
Magnólia Araújo

¹ Universidade de Coimbra, CES - Centro de Estudos Sociais, Colégio de S. Jerónimo, Coimbra, Portugal

² CIBIO, Centro de Investigação em Biodiversidade e Recursos Genéticos, Universidade do Porto, InBIO

³ Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, Campus Universitário Central, Mossoró/RN

⁴ Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN

Autor para correspondência: rita.ml.campos@gmail.com





A experiência desenvolvida e apresentada neste artigo descreve um curso de formação de professores que se deu no âmbito de uma colaboração internacional em educação científica/divulgação das ciências envolvendo pesquisadores de Portugal e do Brasil. Alunos de licenciaturas nas áreas das ciências naturais participaram do curso, que teve o objetivo de introduzir os temas de Genética Populacional e Biologia Evolutiva utilizando metodologias de aprendizagem ativa - "*active learning*", uma estratégia de aprendizagem que requer uma participação ativa do estudante no processo de aprendizagem.

GENÉTICA, BIODIVERSIDADE E EVOLUÇÃO COMO TEMAS DIFÍCEIS DE ENSINAR E APRENDER

No ensino de biologia muito se tem discutido sobre as dificuldades que o aluno apresenta para aprender conceitos científicos e entre essas dificuldades as concepções alternativas têm contribuído para dificultar o processo de ensino e aprendizagem dos alunos. Essas concepções alternativas podem ser definidas como construções pessoais dos alunos que se formam de maneira espontânea, oriundas de suas interações cotidianas com o mundo. Lidar com essas concepções, em especial quando se trata de conteúdo relacionado com evolução biológica, tem sido um desafio pois, muitas vezes, os próprios docentes apresentam concepções alternativas que são resistentes e que não foram confrontadas com outras perspectivas durante seu curso de formação inicial, o que contribui para tornar o ensino desse conteúdo ainda mais difícil na escola. Os conceitos biológicos são fontes de muitas das dificuldades para os alunos, e isso pode servir de incentivo para que os professores busquem novas formas de organizar e abordar os conteúdos, adaptando-os aos interesses e à capacidades dos aprendizes. Utilizar materiais diversificados pode ser uma forma de contribuir para a aprendizagem significativa e a redução das dificuldades de aprendizagem desses conteúdos. Por exemplo, a utilização de jogos didáticos que potencializem a participação ativa dos alunos e assim estimulem a aprendizagem ativa que auxilia a construção autônoma do conhecimento por via do que os alunos veem acontecer. Dessa forma, ao trocar a exposição teórica dos conceitos por uma abordagem ativa dos mesmos, os professores também ganham tempo e oportunidades para discutir os conteúdos e perceber eventuais dificuldades de aprendizagem dos alunos.

IMPORTÂNCIA DE RELACIONAR QUESTÕES AMBIENTAIS COM GENÉTICA E EVOLUÇÃO

A evolução é um tema transversal da biologia, permitindo compreender e relacionar

conteúdos, evitando que o estudo da vida seja uma coleção de fatos com os conteúdos “arrumados em gavetas” (SÁ-PINTO *et al.*, 2014). Parte deste estudo lida com as questões da classificação dos seres vivos e das relações que estabelecem entre si e com o meio ambiente, fornecendo dados fundamentais para lidar com perturbações ambientais, compreendendo os seus impactos e definindo estratégias de conservação e gestão da biodiversidade.

Esfôrços para se compreender e caracterizar melhor os táxons podem ser complementados pela utilização de conhecimentos da genética, mais especificamente da genética populacional. Isso permite avaliar o potencial ecológico de determinadas áreas e planejar ações de conservação para serem ali desenvolvidas. Nesse sentido, a genética permite, por exemplo, avaliar o impacto de tamanhos populacionais reduzidos sobre variações funcionais importantes, ligando a dinâmica demográfica da população com questões como adaptação e aptidão, compreender a extensão da interação entre genes e o ambiente, ou o impacto da deriva gênica ou da endogamia no pool genético de populações ou unidades de gestão. Isso ressalta a importância central de se reconhecer o *status* de identidade dos taxa habitando áreas protegidas.

PERCURSO METODOLÓGICO: ABORDAGEM DADA À DISCUSSÃO DO TEMA E AO USO DOS JOGOS NO ENSINO

O curso foi organizado em três etapas que poderão ser replicadas em sala de aula. A primeira consistiu na discussão dos temas de forma introdutória a partir de questionamentos; levantamento de concepções por meio de questionários e verificação de conceitos errôneos. Na segunda etapa, fez-se uma apresentação, explicação e execução de cada jogo, destacando os aspectos importantes e deixando tempo para os alunos colarem suas dúvidas e levantarem novas possibilidades de uso dos jogos. Por fim, a terceira etapa constituiu-se de uma discussão sobre as possibilidades de usos do jogo com os futuros alunos e uma avaliação geral dos jogos e da proposta de percurso metodológico.

a. Diagnóstico de concepções alternativas e breve introdução teórica dos conceitos

Os questionários distribuídos na primeira etapa do curso foram elaborados para avaliar o conhecimento e a aceitação da evolução. Tiveram como objetivo a identificação de concepções alternativas sobre evolução entre os participantes do curso e simultaneamente estimular um debate sobre o desenvolvimento e persistência dessas concepções entre os alunos do ensino médio e fundamental. No processo de ensino e aprendizagem é importante partir desses conhecimentos prévios que os aprendentes trazem como forma de se trabalhar suas ideias que podem ser alternativas aos conceitos científicos atualmente aceitos.

Focou-se a discussão na importância do professor estar consciente desse problema para assim, por meio de linguagem adequada, trabalhar os conceitos associados ao ensino da genética populacional e biologia evolutiva de forma a promover a compreensão, por parte dos aprendentes, das ideias cientificamente aceitas na interface com aquelas geradas por suas experiências pessoais.

Optou-se ainda por abrir um espaço de debate sobre a relevância do ensino sobre evolução. Neste espaço foi possível discutir as diferentes aplicações dos conceitos evolutivos e das ferramentas metodológicas desenvolvidas no âmbito de pesquisas sobre genética populacional e biologia evolutiva em diversos campos da sociedade, como a medicina, a agricultura ou a engenharia. A definição de evolução biológica diz-nos tratar-se de alterações nas características hereditárias dos elementos de uma população ao longo das gerações. Logo, a existência de variabilidade intraespecífica nas populações é fundamental para que as populações evoluam. Frequentemente a diversidade é negligenciada, saindo favorecidos apenas os exemplos de adaptação, o que reduz a teoria da evolução à evolução por seleção natural.

Os participantes foram questionados sobre diferentes conteúdos relacionados com evolução e sobre como definiriam evolução

biológica e as respostas foram discutidas no grande grupo. Nesta etapa, os conceitos específicos sobre evolução e mecanismos evolutivos não são aprofundados, privilegiando-se uma discussão a partir da eventual diversidade de conhecimentos sobre o tema que os alunos tenham, guardando para a etapa seguinte - a utilização dos jogos - uma abordagem mais aprofundada sobre os conteúdos de evolução.

Tratando-se de um curso de formação de professores, optou-se por organizar a discussão antes da apresentação e da utilização dos jogos, mas, noutros contextos, o professor pode optar por utilizar primeiro os jogos e organizar uma discussão sobre evolução, metodologias de estudo da variabilidade genéticas das populações e suas aplicações (ver parágrafos seguintes) em aulas posteriores.

A discussão dá também o mote para se debater a importância do ensino da teoria da evolução desde os primeiros anos do ensino médio. A contextualização precoce ajuda a uma correta compreensão da evolução biológica, o que, por sua vez, facilita a compreensão de fenômenos com grande impacto social como, por exemplo o aparecimento de bactérias resistentes aos antibióticos ou estirpes novas e patogênicas de vírus, ou outras aplicações que têm por base os conceitos ou as ferramentas metodológicas associadas à teoria da evolução, como as múltiplas aplicações dos algoritmos evolutivos

Ainda numa fase introdutória, foram apresentadas algumas noções básicas de genética populacional e hereditariedade - origem e tipos de mutação, transmissão de mutações nucleares e mitocondriais, métodos laboratoriais para detectar e quantificar variabilidade genética - e de como este conhecimento pode, por exemplo, ajudar a perceber a capacidade de adaptação de uma espécie a alterações ambientais para um desenho adequado de medidas de conservação - genética (e genômica) da conservação.

Por fim, apresentou-se um modelo de recurso didático que faz uso de um caso de estudo recente - a evolução de quatro espé-

NA SALA DE AULA

cies de lebres na Península Ibérica (https://cibio.up.pt/upload/filemanager/Mini-Livro_LebresFantasmasPT_Nov2015.pdf) - para exemplificar os diferentes conceitos que se cruzam no ensino da genética populacional e evolução, e de como os jogos educativos podem auxiliar a compreensão de assuntos potencialmente complexos.

b. A utilização de jogos como estratégia didática

Durante a segunda etapa, a utilização dos jogos seguiu uma estrutura já testada (CAMPOS; SÁ-PINTO, 2013) e que compreende um percurso educativo que se inicia na discussão sobre a existência de variabilidade genética dentro das populações e sobre a transmissão hereditária dessa variabilidade, que passa pelos mecanismos evolutivos que alteram as proporções das diferentes características hereditárias nas populações e termina num debate sobre a origem e diversificação das espécies, invocando todos os conceitos anteriormente abordados.

Depois de discutidas as concepções alternativas, os conceitos e as aplicações da genética populacional e evolução, passou-se à utilização dos jogos e à realização de debates sobre as suas aplicações em contexto de sala de aula ou espaços de educação não-formal. Estes jogos estão descritos sem detalhes em SÁ-PINTO; CAMPOS, 2012; CAMPOS; SÁ-PINTO, 2013; SÁ-PINTO *et al.*, 2017. A referência às concepções alternativas segue os exemplos listados em CAMPOS *et al.*, 2013 e CAMPOS *et al.*, 2017.

Em cada jogo, os alunos foram primeiro informados sobre as regras, após o que todos foram convidados a participar. Importa realçar que todas as aulas dessa etapa foram iniciadas com os jogos, sem incluir apresentações teóricas dos conceitos específicos que cada jogo permite explorar. O professor apenas facilitou a discussão a partir dos resultados que se vão obtendo à medida que o jogo decorre, de forma a que sejam os próprios alunos a definir e aplicar os conceitos, de acordo com os pressupostos da metodologia de aprendizagem ativa.

Os jogos foram pensados para turmas de 25 a 30 alunos mas já foram testados com números mais elevados de alunos. Nesses casos, cabe ao professor gerir as participações, tentando fazer com que todos os alunos tenham um papel ativo durante as fases em que estão efetivamente a jogar ou nas fases em que estão a anotar os resultados e a debater o que se vai alterando no cenário. Idealmente cada jogo ocupará um período de 60 minutos; esse tempo poderá ser ajustado em função do número de alunos na turma: mais alunos implicará em aumento do tempo para cada jogo, para que cada aluno tenha oportunidade de participar.

No exemplo aqui relatado, a turma era composta por 19 professores em formação e cada jogo ocupou entre 60 a 90 minutos; incluiu-se também uma pequena sessão para que os alunos pudessem refletir sobre as diferenças encontradas entre a aprendizagem anterior dos conteúdos trabalhados em cada jogo e a aprendizagem que resultou de terem participado do jogo, trabalhando especificamente as concepções alternativas descritas nos pontos seguintes.

c. Discussão geral e avaliação da metodologia utilizada

Não terceira etapa, ao final das atividades, os participantes partilharam as suas impressões sobre os jogos e suas potencialidades no ensino e aprendizagem de conteúdos de genética populacional, evolução e biodiversidade. Fizeram também uma breve avaliação sobre o uso dos jogos, com base num pequeno questionário, através do qual expressaram suas opiniões.

DESCRÍÇÃO DOS JOGOS: JUSTIFICATIVAS E MODO DE UTILIZAÇÃO

Jogo 1: Analisando a variabilidade gênica numa população – Pedir aos alunos que selecionem fotografias de vários membros da própria família e as disponham num formato de árvore genealógica (Figura 1).

A análise detalhada de um conjunto de características hereditárias, como a cor dos olhos, dos cabelos ou a presença/ausência de cova no queixo, pode começar por ser

feita individualmente, chamando a atenção para a existência de alelos dominantes e recessivos, passando para a análise do conjunto, alertando para a independência na transmissão das diferentes características (com alunos que já compreenderam os conceitos básicos), pode-se discutir as exceções às leis de Mendel, combatendo a concepção alternativa “Cada característica

é influenciada por um lócus do tipo Mendelian”). Uma forma dinâmica de fazer esse alerta consiste em ir agrupando os diferentes elementos da árvore genealógica de acordo com uma só característica e ver como a composição dos grupos muda. Por exemplo, os membros do grupo “cabelo castanho” não serão os mesmos do grupo “sem cova no queixo”.

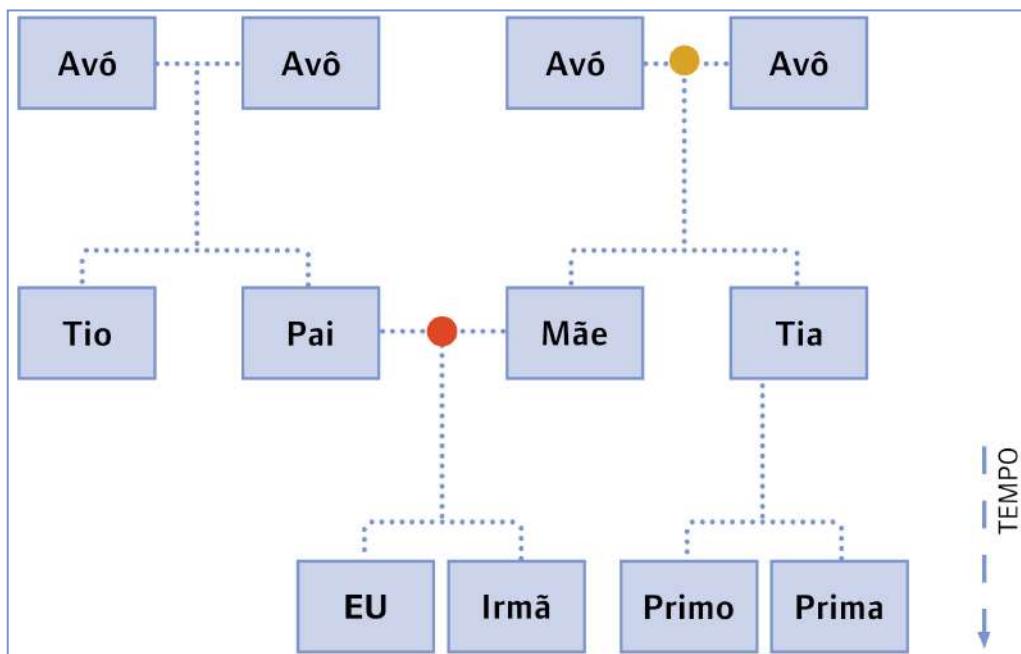


Figura 1.

Esquema de uma árvore genealógica usado para explorar o conceito de diversidade intraespecífica. Em relação ao aluno, assinalado com a caixa “EU”, mostram-se três gerações, nas quais com a ajuda de fotografias, poderão ser identificadas semelhanças e diferenças. Destacam-se ainda dois ancestrais: em vermelho, o ancestral que partilha com o indivíduo familiarmente mais próximo, assinalado com a caixa “Irmã”, e em amarelo o ancestral que partilha com indivíduos familiarmente mais afastados, assinalados com as caixas “Primo” e “Prima”.

Tomando o conjunto, e em particular usando genealogias que mostram ancestrais mais distantes, pode-se discutir uma das concepções alternativas frequentes - “os seres humanos não estão em evolução” - analisando com detalhe as alterações que se verificam nos diferentes membros da genealogia ao longo das gerações. Convém alertar que nesse ponto não devemos referir as características que aparecem e desaparecem (por exemplo, características determinadas por alelos recessivos), mas sim alterações que se possam considerar definitivas. Um exemplo poderá ser a altura. Embora essa seja uma característica multifatorial, sabe-se que muitas populações humanas estão mais altas e isso pode ser visto como uma evidência da evolução (CAMPOS et al., 2013). Pode-se também

falar de resistência a doenças. Não é uma característica que se veja numa genealogia mas pode haver quem saiba de antepassados que tenham morrido por doenças que hoje se tratam, por falta de imunidade, ou de alterações de dieta (se o professor assim o entender, pode aproveitar o tópico para referir uma área de investigação inovadora, que é o estudo genético do metagenoma formado pelos genomas humanos e os genomas das bactérias que constituem a flora intestinal).

Finalizando as análises, importa discutir a relação positiva que geralmente se observa entre proximidade genealógica e taxa de semelhanças: quanto maior o grau de parentesco, mais semelhanças esperamos encontrar. Em casos em que essa relação não se apresente tão evidente, o professor

NA SALA DE AULA

poderá orientar a análise para o conjunto de todas as genealogias e verificar assim que, de um modo geral, a relação positiva referida é verificável. Um caso particular a ter em atenção é a existência de alunos adotados ou de famílias monoparentais. Nesses casos, a atividade poderá ser realizada recorrendo a famílias conhecidas para as quais se consigam imagens de várias gerações nos meios de comunicação social.

Jogo 2: Simulando adaptação em situações de alterações ambientais – Dos três principais mecanismos evolutivos - seleção natural, deriva genética e seleção sexual - a seleção natural é o mais conhecido. Mas, o conhecimento está muitas vezes associado a um desconhecimento sobre o seu modo de funcionamento e de que forma influencia a trajetória evolutiva das populações.

Esse jogo baseia-se no exemplo clássico da mariposa *Biston betularia* para demonstrar como a seleção natural atua sobre uma determinada característica, fazendo alterar as frequências gênicas numa população. Embora o exemplo de base seja uma alteração ambiental induzida pela poluição industrial, pode-se utilizar qualquer exemplo de perturbação ambiental, mediada ou não pelo ser humano.

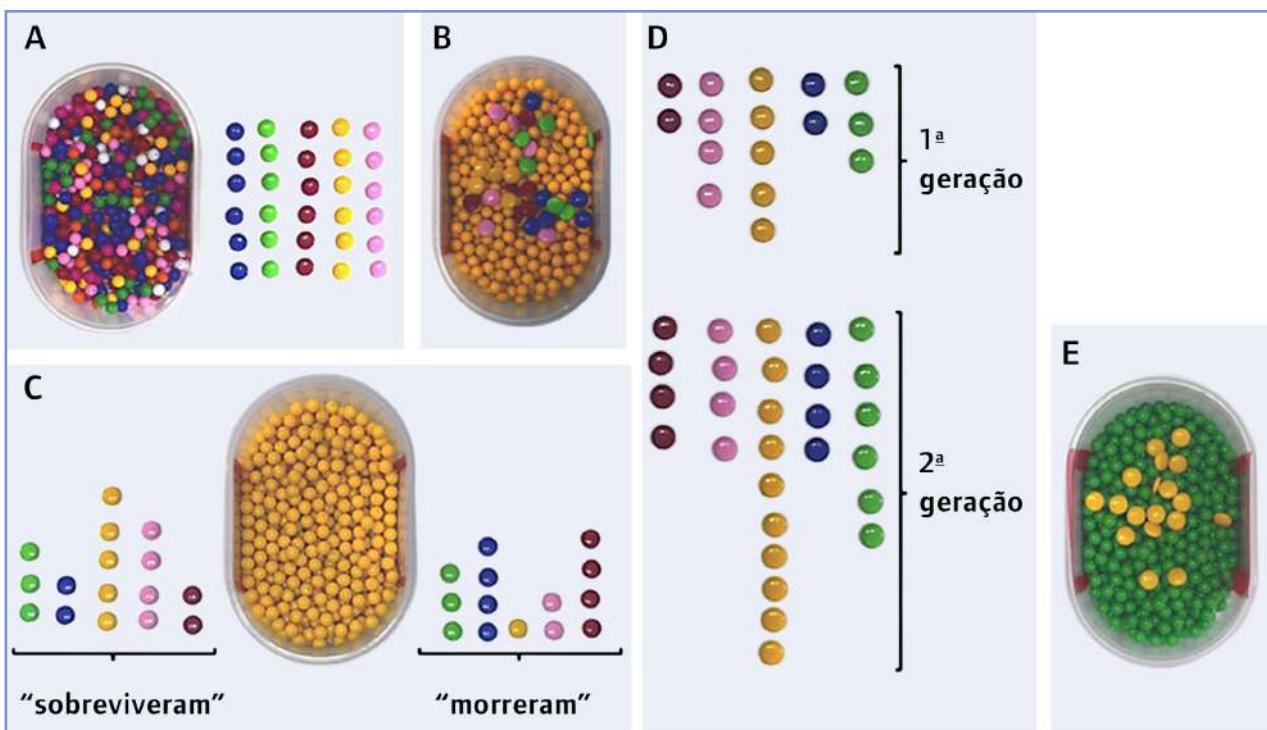
Para facilitar a discussão sobre seleção natural e potencial adaptativo, inicia-se o jogo num “meio ambiente” natural, heterogêneo. Numa caixa cheia de bolas coloridas - o meio ambiente - colocam-se seis discos também coloridos - as presas (Figura 2A). Depois de misturar bolas e discos, pede-se aos alunos - os predadores - que apanhem o máximo de discos em cerca de cinco segundos. Depois de três alunos terem apanhado os discos, retiram-se os que ficaram na caixa e compararam-se as características dos que foram apanhados e dos que ficaram, ressaltando o papel do acaso nessa “predação”.

Simula-se a geração seguinte substituindo cada disco que não foi apanhado - os “pais” - por dois discos com a mesma cor - os “filhos”. Repete-se a predação e a comparação, dessa vez comparando também a distribuição das frequências genéticas entre as duas gerações.

Depois de nova discussão sobre o resultado da predação, simula-se uma alteração ambiental, como a construção de uma fábrica que liberta fuligem para a vegetação, substituindo a caixa com as bolas coloridas por uma caixa com bolas todas da mesma cor (tendo o cuidado de usar uma cor igual a uma das cores dos discos; (Figura 2B). Reinicia-se o jogo colocando o mesmo número de discos de cada cor na caixa e misturando. Pede-se aos jogadores que apanhem os discos, comparando e discutindo sobre as cores que foram apanhadas e as cores que ficaram na caixa e simulando uma nova geração (Figura 2C).

Repetem-se esses passos duas a três vezes. Nessa altura será possível observar que os discos de cor igual à do novo meio ambiente estão aumentando em número (Figura 2D). Ou seja, ao contrário do que acontecia na simulação anterior, em que as alterações das frequências eram aleatórias, na simulação posterior nota-se uma direcionalidade que favorece uma das características, fazendo-a aumentar em frequência na população ao longo das gerações. Nesse momento, é importante fazer os alunos notarem tal fato e consequentemente chegarão autonomamente a uma definição de evolução por seleção natural. Nessa fase, sugere-se que a discussão seja orientada para realçar o fato de a população ter se adaptado ao novo ambiente, mas ter perdido quase toda a sua diversidade. Continuando o jogo simulando um novo ambiente, usando-se, por exemplo, bolas verdes, os alunos verão como a profunda perda de diversidade compromete a sobrevivência da população (Figura 2E).

A utilização do novo meio ambiente ajuda também a criar um espaço para debater algumas das mais frequentes concepções alternativas relacionadas com o modo como atua a seleção natural - “a evolução resulta no progresso; através da evolução, os organismos estão em contínuo aperfeiçoamento”, “seleção natural implica que os organismos tentem adaptar-se”, “a seleção natural dá aos organismos o que eles precisam”, “os seres vivos adaptam-se às condições ambientais”, “os seres humanos não podem impactar negativamente os ecossistemas por-

**Figura 2.**

Principais passos do jogo sobre seleção natural. A: Separar seis discos de cinco cores diferentes, misturá-los num meio colorido (caixa com bolas coloridas) e simular dois a três eventos de predação. B: Reiniciar o jogo num ambiente homogêneo (por exemplo, uma floresta depois de um grande incêndio; caixa com bolas amarelas). C: No final de cada dois a três eventos de predação, comparar os indivíduos que foram apanhados - "mortos" - com os que são "sobreviventes"; simular uma nova geração através da reprodução desses últimos de acordo com a regra 1 progenitor: 2 crias iguais a ele. D: Ao longo das gerações podemos observar alterações nas frequências das diferentes cores na população - evolução biológica; notar que a cor que mais aumenta em frequência é aquela que é semelhante à cor do novo meio - evolução biológica por seleção natural. E: Simular uma nova alteração ambiental (por exemplo, uma extensa plantação de eucaliptos; caixa com bolas verdes) e recomeçar o jogo com uma população com muito baixa diversidade genética - a população que se adaptou ao meio anterior.

que as espécies evoluirão de acordo com o que precisam para sobreviver” ou “qualquer interferência dos seres humanos sobre outros seres vivos é seleção artificial”.

Por fim, repetindo o jogo dividindo os participantes em dois grupos e dando a cada grupo um “meio ambiente” diferente, é possível comparar o resultado da seleção natural sobre a população original e de como as duas novas populações, que se adaptaram a meios diferentes, são tão diferentes uma da outra e da população original. Ou seja, é possível ver como, ao longo das gerações e sujeitos a pressões seletivas diferentes, as populações vão se diferenciando sob a ação da seleção natural, originando novas espécies. Essa discussão ajuda também a combater a concepção alternativa “A partir de um mesmo ancestral, devido à diferença entre os indivíduos, ocorre divergência entre os organismos que colonizam diferentes habitats”.

Ao simular as gerações e ao observar as alterações na população ao longo das gerações, pode-se minimizar o desenvolvi-

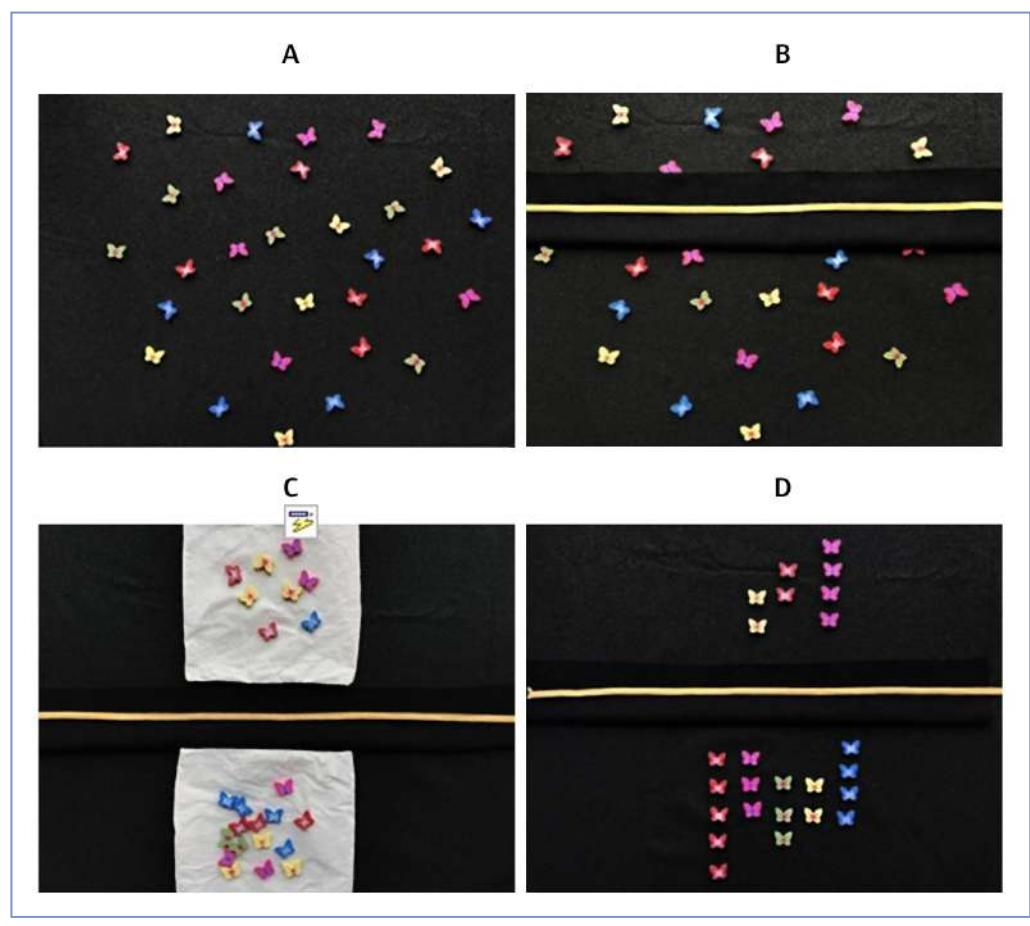
mento da concepção alternativa “Os organismos podem evoluir durante o seu tempo de vida”. Essas simulações ajudam também a discutir a natureza da ciência e o enquadramento da teoria da evolução no conhecimento científico, por vezes mal compreendido (segundo a concepção alternativa “A evolução não é ciência porque não pode ser observada ou testada”), salientando o aspecto experimental dos jogos e de como podem equiparar-se a experiências com organismos com tempos de geração muito curtos (como, por exemplo, bactérias ou moscas do gênero *Drosophila*).

Jogo 3: Aleatoriedade na alteração das frequências gênicas - Ao contrário da seleção natural, a deriva genética é um mecanismo pouco valorizado como força evolutiva. No entanto, e particularmente quando as populações são pequenas, é um mecanismo poderoso, que pode alterar profundamente as frequências genéticas de uma população. Alguns exemplos interessantes para despertar o interesse dos alunos por tal mecanismo vêm de populações humanas isoladas. O papel da deriva gené-

NA SALA DE AULA

tica é também importante para a genética da conservação uma vez que as populações ameaçadas de extinção têm habitualmente um efetivo populacional baixo ou em declínio, fazendo com que estejam mais sujeitas à ação da deriva genética. Por outro lado, os parâmetros demográficos das populações determinados pela sua análise genética são estimados assumindo a neutralidade, ou seja, que as alterações na composição genética das populações ocorrem por deriva genética.

Para simular uma redução drástica de efetivo populacional e poder observar o efeito da deriva genética sobre o fundo genético de uma população, usamos um cenário de fragmentação do habitat por interferência humana. Qualquer cenário de perturbação ambiental que conduza à redução do efetivo populacional pode ser usado, apenas sugerimos que a simulação inclua pelo menos duas populações, com efetivos diferentes, para que se possa comparar as duas trajetórias evolutivas.



A introdução de uma barreira - uma autoestrada de múltiplas vias - num habitat “pano” - um pedaço de tecido - levará à redução do habitat original de uma população de borboletas e ao isolamento das novas subpopulações. Para isso espalham-se igual número de borboletas de cores diferentes sobre um pano - o habitat (Figura 3A) - e pede-se a um participante que construa a estrada colocando uma faixa

de tecido sobre o habitat (Figura 3B). A faixa dividirá o habitat em dois, uma parte menor do que a outra, e as borboletas que ficaram por baixo da faixa são retiradas do jogo - morreram. Ao comparar as duas novas populações uma com a outra, e cada uma com a população original, percebe-se que ficaram diferentes e que a alteração das frequências deu-se de forma aleatória.

Figura 3.
Principais passos do jogo sobre deriva gênica. A: Separar seis elementos (borboletas de madeira, neste caso) de cinco cores diferentes e espalhá-los aleatoriamente sobre um meio ambiente (pedaço de tecido quadrado). B: Simular a construção de uma barreira física (estrada asfaltada) colocando aleatoriamente uma faixa de tecido sobre o meio. Para mostrar o efeito da deriva em populações com diferentes tamanhos, colocar a faixa de maneira a ficar com duas populações com efetivos populacionais diferentes. Nesse passo, eliminar do jogo os elementos que ficaram total ou parcialmente por baixo da faixa (considerar que “morreram”). C: Simular uma nova geração em cada população através da reprodução de metade dos indivíduos de cada população de acordo com a regra 1 progenitor: 2 crias iguais a ele; usar sacos opacos para escolher quais os indivíduos que se reproduzirão em cada população e em cada geração. D: Ao longo das gerações, observar alterações nas frequências das diferentes cores em cada população - evolução biológica; notar que essas alterações ocorrem de forma aleatória - evolução biológica por deriva gênica - e que são mais drásticas na população com menos indivíduos.

Para simular a geração seguinte de forma também aleatória, colocam-se as borboletas de uma das populações num saco opaco e retira-se apenas metade - a fração da população que se reproduzirá (Figura 3C). Simula-se a reprodução substituindo cada uma dessas borboletas por duas iguais a elas. Repete-se com as borboletas da outra população e retoma-se a discussão sobre as semelhanças e diferenças entre as duas novas populações.

Simulam-se novas gerações repetindo os mesmos passos, criando espaços para observar e discutir as alterações nas frequências genéticas das duas populações e na forma como a alteração ocorre em cada uma - é esperada uma maior alteração, com perda mais acentuada de variantes genéticos, na população menor (Figura 3D). Nessa altura pode-se enriquecer a discussão comparando os resultados desse jogo com os obtidos no jogo da seleção natural, realçando a relação entre diversidade genética e a capacidade de cada uma das duas novas populações se adaptarem a alterações ambientais. Pode-se ainda debater os exemplos das populações humanas atribuindo a cada cor uma função relacionada com uma doença humana, explicando assim a prevalência de algumas patologias em certas populações (ver exemplos em CAMPOS *et al.*, 2014).

Para debater o efeito da deriva genética na formação de novas espécies, pode-se usar o mesmo cenário ou simular a colonização de dois ou mais novos habitats (por exemplo, ilhas), o que normalmente se faz com poucos indivíduos da população original, e seguir a trajetória evolutiva das novas populações e da população original de acordo com as instruções para o jogo da fragmentação do habitat. Para manter a aleatoriedade no processo de colonização, as borboletas que irão para cada novo habitat devem ser retiradas de dentro de um saco opaco.

Orientando as discussões no sentido das comparações entre as duas novas populações e entre essas e a população original, e dando ênfase na aleatoriedade e na amplitude das alterações verificadas, ajuda-se os

alunos a combaterem a concepção alternativa frequente “A deriva genética ocorre apenas em populações pequenas”. Ou seja, esse mecanismo evolutivo ocorre sempre, independente do tamanho da população, mas o seu impacto é maior e muitas vezes apenas perceptível em populações pequenas.

Jogo 4: Destacando a importância da reprodução na evolução – A sobrevivência dos indivíduos é frequentemente invocada como o atributo-chave para que a seleção natural atue. No entanto, uma observação mais atenta sobre diversas características presentes em alguns indivíduos de muitas espécies mostra-nos que, muitas vezes, a seleção favorece o que parece ser prejudicial para a sobrevivência dos indivíduos, como a exibição de cores ou de comportamentos conspícuos ou a presença de grandes hastes ou outras protuberâncias. Darwin debruçou-se sobre essa questão tendo concluído que, nesses casos, atuava uma forma diferente de seleção que favorecia especificamente a reprodução dos indivíduos, designada de seleção sexual.

Embora muitas vezes negligenciada nos currículos escolares, ao ponto de não se encontrar informação sobre concepções alternativas sobre ela, a seleção sexual ajuda os alunos a perceberem o conceito de aptidão (evolutiva) e de como o conceito relaciona-se com a capacidade adaptativa dos indivíduos e das populações. Pesquisas recentes têm também mostrado a influência desse mecanismo na formação das espécies.

Por meio de jogos é possível simular dois tipos de seleção sexual - seleção inter (escolha do parceiro) e intra-sexual (competição pelo parceiro) - e criar espaços de discussão sobre o impacto desse mecanismo na evolução.

Para simular um cenário de escolha do parceiro usa-se um conjunto de máscaras com graus de coloração diferentes, do branco ao muito colorido. Espalham-se as máscaras - indivíduos de um dos sexos - sobre uma superfície lisa e pede-se a cada participante - indivíduos do outro sexo - que escolha aquela que lhe parecer

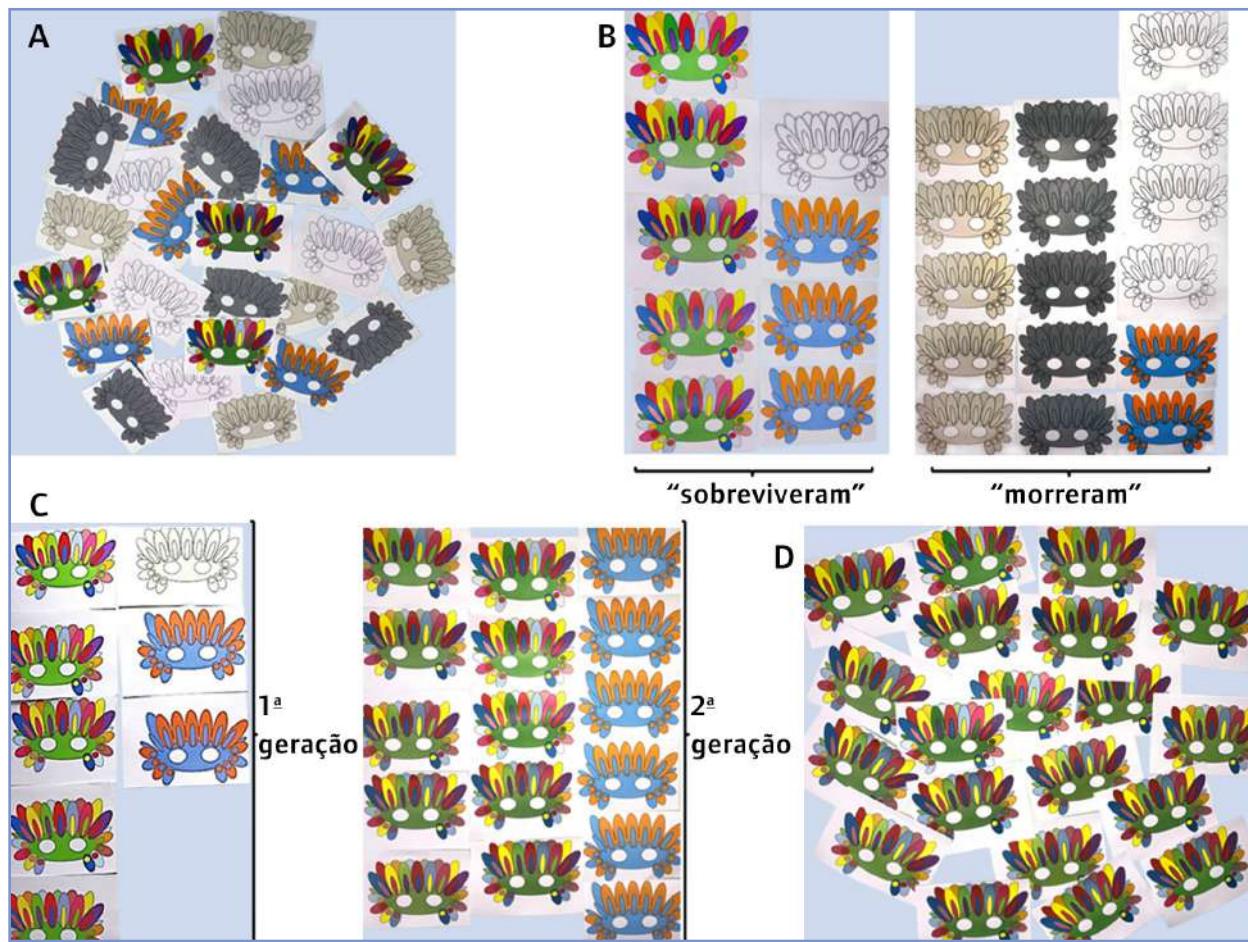


Figura 4.

Principais passos do jogo sobre seleção sexual. A: Separar um número equivalente de máscaras de cinco cores diferentes e espalhá-las numa superfície lisa; cada aluno deverá escolher uma máscara de acordo com a preferência. B: Comparar as máscaras que foram escolhidas ("sobreviventes") - as que se reproduzirão e contribuir para a geração seguinte - com as que não foram escolhidas ("mortos") - não se reproduzem e por isso as suas características não estarão representadas na geração seguinte. C: Simular as novas gerações através da reprodução das máscaras escolhidas de acordo com a regra 1 progenitor: 2 crias iguais a ele. D: Ao logo das gerações podemos observar alterações nas frequências das diferentes cores na população - evolução biológica; notar que a cor que mais aumenta em frequência é aquela que é mais escolhida em cada geração - evolução biológica por seleção sexual.

mais apelativa. Feitos os pares, pode-se discutir os motivos das escolhas, após o que se simula uma nova geração: cada par deixa três filhos, dois iguais à máscara e um igual ao participante.

Discute-se a nova população, do ponto de vista da sua composição, em relação ao tipo de máscaras. Repete-se a escolha e a reprodução e observam-se as diferenças a cada nova geração. Espera-se que os indivíduos mais coloridos tenham sido preferencialmente escolhidos, levando a que a frequência dessa característica tenha aumentado a cada nova geração. Podem-se simular outros cenários alterando o número inicial de máscaras ou as regras para a escolha do parceiro.

Para simular seleção sexual por competição entre parceiros utilizam-se balões alongados com diferentes tamanhos - in-

divíduos de um dos sexos - e as máscaras - indivíduos do outro sexo. O número de máscaras deverá ser metade do número de balões. De forma aleatória, distribuem-se os balões entre os participantes e cada par de participantes deverá "combater" entre si pelo acesso à máscara. Ganhá o combate o participante que tiver tocado três vezes com o balão no outro participante e apenas esse se reproduz. Simula-se a nova geração com cada par balão-máscara substituindo o balão por dois de igual tamanho e a máscara, por uma igual. Repetem-se os combates e as gerações, discutindo o modo como a composição da população está se alterando quando observada a diversidade de tamanhos dos balões. Espera-se que a frequência dos balões mais compridos tenha aumentado, demonstrando a ação da seleção sexual sobre esse tipo de característica.

Considerando a pouca importância atribuída à seleção sexual no ensino da evolução, estes jogos promovem um maior reconhecimento sobre este tipo de seleção e facilitam o debate sobre as várias características (como a morfologia ou o comportamento) e momentos (pré e pós-cópula) que evoluem sob a ação da seleção sexual.

Jogo 5: Classificando organismos com base em suas semelhanças e diferenças
– Embora seja mais fácil de observar o efeito dos mecanismos evolutivos a longo prazo, na miríade de espécies que habitam ou habitaram o planeta, os alunos sentem muitas vezes dificuldade em compreender os processos numa escala macro evolutiva. A construção autônoma das relações evolutivas entre espécies pode ser um primeiro passo para uma correta interpretação dos diagramas usados para representar essas relações - genericamente designadas por árvores evolutivas ou filogenéticas - e a integração dos diferentes mecanismos evolutivos numa escala temporal alargada.

Este jogo inicia-se espalhando um conjunto de imagens de várias espécies numa superfície lisa (Figura 5A) e pedindo aos participantes que escolham um par de espécies que sejam mais semelhantes entre si do que com qualquer outra espécie. Repete-se esse passo até todas as espécies estarem emparelhadas (Figura 5B). Sugere-se a criação de um espaço de discussão para observação cuidada das principais características que foram usadas para agrupar as espécies. Depois desse primeiro emparelhamento, os participantes devem formar pares usando os pares já feitos e o mesmo critério de semelhanças. Repete-se o passo até todas as espécies formarem um só grupo - o grupo dos seres vivos - tendo o cuidado de manter sempre um diálogo sobre os critérios utilizados nos emparelhamentos (Figura 5C).

Selecionam-se alguns grupos e, num quadro ou numa folha de papel, desenha-se um esquema que mostre a ordem com que as espécies foram emparelhadas: na linha debaixo ficam as espécies, na linha imediatamente acima desenham-se linhas que representem o primeiro agrupamen-

to, e assim sucessivamente, até todas as espécies e pares estarem ligados.

Fazendo um paralelismo entre o esquema desenhado (Figura 5D) e a árvore genealógica do primeiro jogo (Figura 1), orienta-se a discussão para a forma como as diferentes espécies partilham ancestrais comuns mais ou menos recentes e de como essa diferença para os diferentes ancestrais se reflete nas diferenças e semelhanças entre elas. Na utilização dessa analogia, o professor deve ter em atenção as diferenças fundamentais entre uma genealogia e uma filogenia. Por exemplo, na árvore genealógica os ancestrais podem coexistir com os seus descendentes mas tal não se verifica na árvore filogenética.

Relembrando o modo como os diferentes mecanismos evolutivos atuam sobre o fundo genético das populações, discute-se a relação positiva entre tempo de divergência entre duas populações ou espécies e o grau de diferenças acumuladas: espera-se que espécies que divergiram há mais tempo - logo, partilham um ancestral comum mais antigo - sejam mais diferentes entre si que espécies que se separaram há menos tempo - partilham um ancestral comum mais recente. Alertar os participantes para o fato de haver diferentes ancestrais na árvore que se desenhou, trabalhando assim a concepção alternativa “as espécies só têm um ancestral comum que é o representado na filogenia como o nó mais recente”.

O desenho do esquema ajuda também a combater diferentes concepções alternativas relacionadas com a interpretação de árvores evolutivas, como “taxa que são adjacentes nas pontas de uma filogenia são mais próximos entre si do que com qualquer outra taxa em pontas mais distantes da filogenia” ou “taxa que aparecem perto da ponta ou no lado direito da filogenia são mais evoluídos que os outros organismos na árvore”. Este jogo facilita ainda a desconstrução das concepções alternativas relativas à origem do ser humano e a sua relação filogenética com os restantes primatas (“os humanos são descendentes diretos dos macacos”).

NA SALA DE AULA

Por fim, o jogo pode também ser usado para debater conceitos mais complexos, como convergência evolutiva, ou a importância de se usar diferentes marcadores para identificar e classificar as espécies, como o caso das espécies críticas, bastando, para tal, selecionar espécies que exemplifiquem os casos que se pretende abordar.

Esse último exemplo e o das lebres ibéricas, ou qualquer outro caso de especiação rápida, são úteis para uma discussão sobre o processo de formação de espécies e para debater a concepção alternativa “As espécies são entidades naturais distintas, com uma definição clara, e que são facilmente identificáveis por qualquer pessoa”.

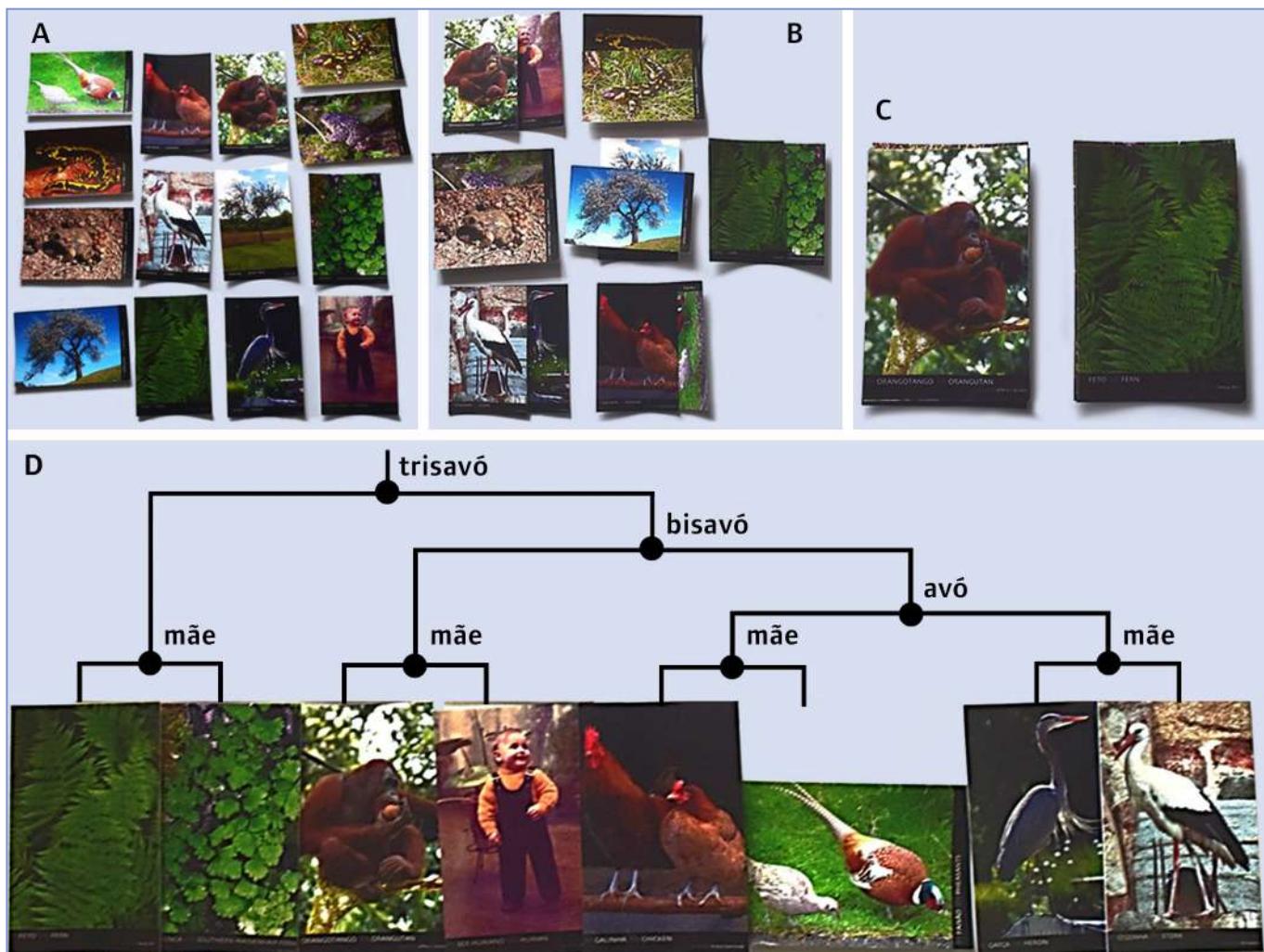


Figura 5.

Principais passos do jogo sobre sistemática. **A:** Selecionar algumas imagens de seres vivos e espalhá-los sobre uma superfície lisa; neste exemplo, utilizaram-se 14 - 10 animais e 4 plantas. **B:** Agrupar os seres vivos em pares usando como critério terem mais semelhanças entre si do que com qualquer dos outros seres vivos. Neste exemplo fica-se com sete pares: Primatas, Anfíbios caudata, Anfíbios, anura, Aves galiformes, Aves ciconiformes, Plantas angiospéricicas e Plantas pteridófitas. **C:** Repetir esse passo agrupando os primeiros pares em grupos de quatro seres vivos até agrupar todas as imagens, usando sempre o critério de maior semelhança; neste exemplo, chegaremos primeiro aos grupos de Primatas, Anfíbios, Aves e Plantas e finalmente chegamos aos grupo de Animais e Plantas, terminando com o grupo único de todos os seres vivos. **D:** Selecionar alguns exemplos e, num quadro (preferencialmente) ou folha de papel, esquematizar a forma como os grupos foram organizados, usando um esquema com linhas retas. Usando a analogia com a árvore genealógica, notar que as semelhanças entre seres vivos são, na maioria dos casos, um reflexo das suas relações evolutivas e do tempo que decorreu desde que se separaram do último ancestral comum.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os jogos aqui apresentados foram desenvolvidos para serem utilizados sem necessidade de aulas teóricas introdutórias sobre evolução e mecanismos evolutivos pois o desenvolvimento do tema se faz durante o seu desenlace e o professor tem oportunidade de desenvolver o conteúdo na interação com os alunos, durante as discussões. As discussões teóricas realizadas

no início da sequência didática tiveram apenas como finalidade abordar, de forma muito resumida, alguns conceitos de genética e hereditariedade, para que em seguida os alunos possam contextualizá-los durante os jogos, e criar uma oportunidade de discutir com os futuros professores de ciências a importância e relevância do conhecimento sobre evolução em diferentes setores da sociedade. Nesta proposta, a aula sobre os conceitos foi usada no início mas o professor pode optar por fazer essa aula no final, consolidando o conhecimento adquirido através dos jogos.

A fala dos alunos durante a realização dos jogos e discussões subsequentes foi usada para avaliação informal da compreensão dos conceitos e da sua aplicação em diferentes contextos, nomeadamente pela proposta de cenários ambientais alternativos, com ligação próxima à comunidade onde os participantes se inserem.

A maioria dos participantes declarou, no questionário de avaliação do curso, que o uso dos jogos, no modo como foi abordado, facilita a compreensão do tema que, em princípio, muitos consideravam difícil de ser compreendido. Destaque-se que a dinâmica interativa dos jogos favorece espaços de discussão mediada pelo professor, promovendo assim a construção do conhecimento por parte do aluno.

Embora tenha havido uma discussão teórica inicial, essa não abordava os conceitos sobre evolução que os jogos permitem elucidar, tais como as definições de evolução por seleção natural, por deriva genética e por seleção sexual, e a macroevolução (sistêmica), além das diferentes aplicações desse conhecimento. A compreensão desses temas pode ser constatada na medida em que muitos participantes destacaram a rápida internalização dos conceitos específicos abordados em cada jogo e a sua integração num campo de conhecimento mais alargado e em situações que lhes são próximas, o que foi proporcionado pela dinâmica de questionamentos feitos durante o desenvolvimento dos jogos, permitindo desmistificar várias concepções alternativas comuns.

Todos os participantes declararam ter adquirido uma nova visão sobre os temas tratados e muitos destacaram, em especial, o fato de poder reproduzi-los, posteriormente, como estratégia didática nas suas aulas de genética e evolução.

REFERÊNCIAS

- CAMPOS, R. (ed.) et al. (58 autores) *Um livro sobre evolução*. CIBIO, Centro de Investigação em Biodiversidade e Recursos Genéticos. Porto, Portugal, 2013.
- CAMPOS, R. et al. (2014). *Somos mutantes!* Disponível em: <<http://cibio.up.pt/resources-1/details/exhibition-somos-mutantes>> Disponível em 20/06/2017.
- CAMPOS, R.; SÁ-PINTO, A. Early evolution of evolutionary thinking: teaching evolutionary biology in elementary schools. *Evolution: Education and Outreach* v.6, p.25, 2013.
- SÁ-PINTO, X.; CAMPOS, R. *As borboletas da floresta amarela*. CIBIO, Centro de Investigação em Biodiversidade e Recursos Genéticos. Porto, Portugal. 2012.
- SÁ-PINTO, X.; CARDIA LOPES, P.; CAMPOS, R. Sexual selection: a short review on its causes and outcomes and activities to teach evolution and the nature of science. *The American Biology Teacher*, v.79, n.2, p.131-139, 2017.
- SÁ-PINTO, X.; PONCE, R.; FONSECA, M. J.; DE OLIVEIRA, P.; CAMPOS, R. Evolução biológica no dia-a-dia das escolas. *Revista de Ciência Elementar*, v.2, n.3, p.21-25, 2014.

AGRADECIMENTOS

Rita Campos é apoiada pelo POCH - Programa Operacional Capital Humano e por fundos do Fundo Social Europeu e do Ministério da Ciência, Tecnologia e Ensino Superior (MCTES) de Portugal, via Fundação para a Ciéncia e a Tecnologia (FCT; bolsa SFRH/BPD/110348/2015).

As autoras agradecem aos participantes da ação de formação, em particular à professora Rute Alves Sousa pelas discussões e comentários que levaram à concepção deste artigo e a João Mateus e Deise Felix pela ajuda na produção das imagens. Agradecemos ainda à SEDIS/PROEX-UFRN pela viabilização financeira da ação.

O efeito da construção de uma usina hidrelétrica na biodiversidade de peixes: uma investigação sobre frequências alélicas e fenotípicas

Rafael Gil de Castro¹, Marcelo Tadeu Motokane², Marcelo Pereira²

¹ Professor de ciências do município de Brodowski, mestrando do programa Interunidades em Ensino de Ciências, modalidade Biologia, Departamento de Biologia da Faculdade de Ciências e Letras de Ribeirão Preto Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP

² Departamento de Biologia da Faculdade de Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP

Autor para correspondência: rafacastro07@hotmail.com



Esta sequência didática investigativa tem o objetivo de promover a reflexão dos estudantes acerca dos impactos ambientais de uma usina hidrelétrica na biodiversidade local. O conceito de biodiversidade é enfocado do ponto de vista genético. Os estudantes são levados a refletir sobre a temática a partir de dados, tais como as frequências alélicas e fenotípicas, sobre uma população de peixes de um rio fictício onde foi construída uma usina hidrelétrica. As atividades estimulam os estudantes a usar o conhecimento científico para compreender o fenômeno estudado e potencializar suas tomadas de decisão.

A DIVERSIDADE GENÉTICA E O ENSINO

A biodiversidade é um tema presente em nossa realidade e tem ganhado cada vez mais destaque no cenário mundial devido às consequências de sua perda. A crise hídrica, o desmatamento da Amazônia, a construção de usinas hidrelétricas, as enchentes nas grandes cidades, a extinção de espécies e a escassez de alimentos são apenas alguns exemplos de questões que necessitam do conhecimento sobre a biodiversidade para a tomada de posicionamentos. Com isso, faz-se necessário o desenvolvimento de materiais didáticos que possibilitem a fundamentação de opiniões pelos estudantes em relação a esses aspectos. A biodiversidade amplia a aprendizagem da ciência para fronteiras de outras dimensões como a ambiental, a social, a política e a econômica.

A ideia de biodiversidade, na qual esta atividade está baseada, é a de que ela não é uma mera coleção de genes, espécies ou ambientes, mas sim um conjunto dinâmico e interativo entre os diferentes níveis da hierarquia biológica. É graças à existência de uma diversidade genética no seio das espécies que elas podem se adaptar às mudanças do meio ambiente que sempre marcaram a história da Terra; reciprocamente, a diversidade genética de uma espécie evolui em função do tempo, em resposta a essas mudanças do meio ambiente, bem como em razão das mutações. A partir dessas ideias, propusemos uma sequência de atividades que pretende estimular os estudantes a investigarem uma questão a partir de dados científicos hipotéticos e, dessa forma, superar o desafio que é abordar a biodiversidade em nível genético na sala de aula.

UMA SEQUÊNCIA DIDÁTICA INVESTIGATIVA

O contexto proposto para as atividades é a perda da biodiversidade por impactos causados pelas construções de usinas hidrelétricas. A abordagem dada à situação problema permite que os estudantes possam compreender a importância da biodiversidade genética para a sobrevivência das espécies. O objetivo

da atividade é abordar os seguintes conteúdos:

- ◆ **Conceituais:** fenótipo, genótipo, frequências genotípica e fenotípica, homozigose, heterozigose, gene, alelo, dominância incompleta, migração, impacto ambiental, biodiversidade em nível genético e populacional;
- ◆ **Procedimentais:** análise de mapa, interpretação de dados de tabela e imagem, cálculo de frequências;
- ◆ **Atitudinais:** trabalhar em grupo, respeitar o outro quando este estiver expondo sua opinião ao restante da sala, postura ética perante os problemas ambientais.

A atividade foi planejada para ser desenvolvida junto a estudantes do ensino médio. Contudo, também é possível utilizá-la no ensino superior. Dividimos o material em duas partes:

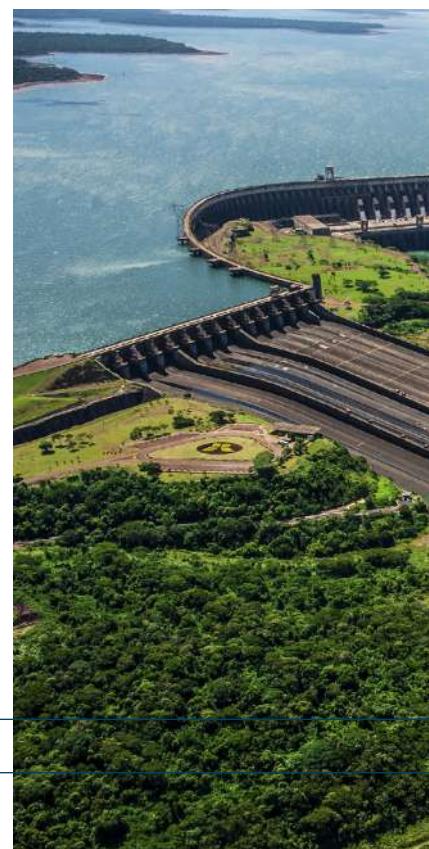
- ◆ **Parte A** – Material apresentado para os estudantes
- ◆ **Parte B** – Comentários para professores

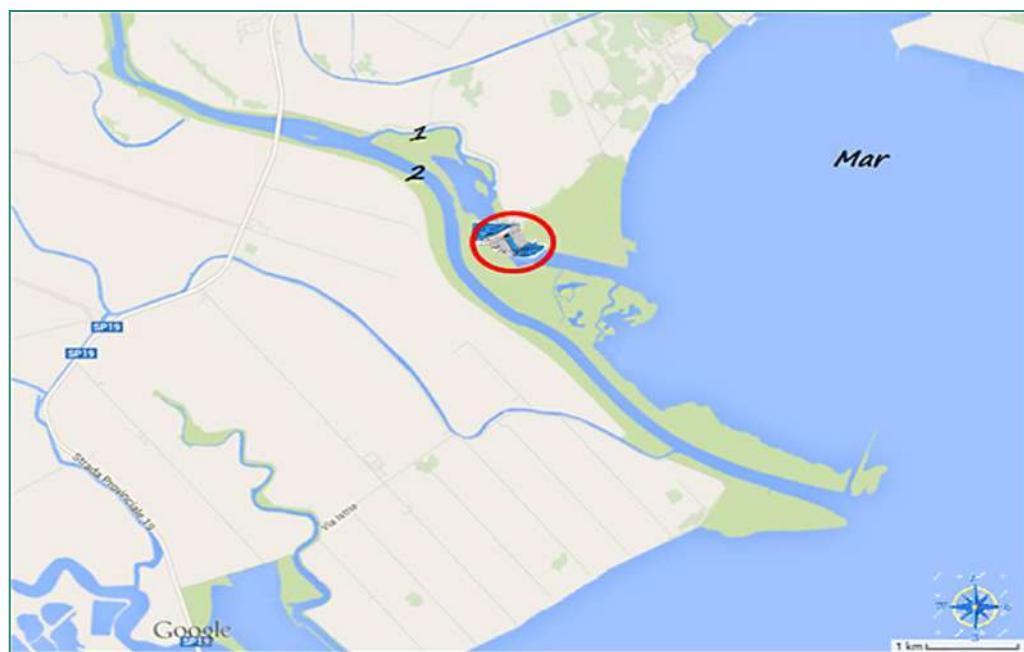
PARTE A – MATERIAL APRESENTADO PARA OS ESTUDANTES

Problema proposto

A construção de qualquer empreendimento ocasiona impactos socioambientais para o seu entorno, principalmente quando se trata da construção de uma grande usina hidrelétrica. Uma das maiores preocupações diz respeito às possíveis perdas de biodiversidade. Por isso, a legislação brasileira assegura que devem ser realizados estudos de impacto ambiental na área em que se dará o empreendimento. A intenção seria analisar se as perdas ambientais ocorridas serão compensadas pela melhoria na qualidade de vida da população após a instalação do empreendimento.

Para entenderem e vivenciarem a complexidade disso que foi mencionado, supõe-se a atuação de um grupo de profissionais que avaliará os possíveis impactos ambientais gerados pela construção de uma barragem de usina hidrelétrica numa região hipotética.



**Figura 1.**

Esquema das rotas migratórias dos peixes. Rota 1 – caminho que os peixes realizavam antes da instalação da barragem da usina. Rota 2 – caminho atual que os peixes devem fazer para ter acesso ao litoral. Notem que o percurso é maior do que o anterior. A barragem da usina está destacada por um círculo vermelho na figura.

Essa região tem como relevo predominante o planalto; clima tropical; o bioma é de floresta tropical; apresenta um rio principal que se divide em dois afluentes antes de desaguar na região de mar.

Considera-se também que a instalação de indústrias na região demandou mais energia e, em 2009, foi iniciada na região a construção da barragem de uma usina hidrelétrica em um dos afluentes. Os estudos de impacto ambiental realizados para a construção desse empreendimento foram duramente criticados por setores ambientalistas da sociedade,

o que ocasionou a interrupção das obras em 2015. As autoridades locais decidiram realizar novo estudo para analisar a perda da biodiversidade e verificar se poderiam ou não dar continuidade às obras. Dentre os vários profissionais solicitados, foram selecionados alguns biólogos para realizar o estudo sobre a biodiversidade de peixes do local. Os biólogos ficarão encarregados de investigar várias situações para que possam, ao final de todo o processo, responder à seguinte pergunta: os impactos na biodiversidade dos peixes da região são significativos?

Estudando o genótipo e o fenótipo

Os indivíduos de uma população apresentam diferenças entre si, sendo algumas dessas diferenças de caráter genético.

Nosso foco de estudo será uma suposta população de peixes de tal rio que apresenta o comportamento migratório no período reprodutivo. Eles se alimentam de frutos e pequenos insetos que caem das árvores da mata ciliar e assim conseguem estocar determinada quantidade de gordura no corpo, de acordo com a predisposição genética de cada indivíduo desta população e a oferta de alimento do ambiente. Após a época de chuvas, os peixes param de se alimentar e tanto machos quanto fêmeas migram dos rios até o oceano, e se reproduzem na costa, voltando ao rio após o período da desova.



MATERIAIS DIDÁTICOS

Análise da figura 2 que representa a população de peixes migratórios do rio em questão: nessa população de peixes há um gene que confere ao indivíduo a capacidade de armazenamento de gordura no corpo. Esse armazenamento é de grande importância durante a migração desses animais para a foz do rio uma vez que a oferta de alimento é escassa durante o percurso. Esse

gene apresenta dois alelos: um, que vamos chamar de A1, que confere armazenamento de grande quantidade de gordura corporal e outro, que vamos chamar de A2, que confere baixa quantidade de armazenamento. Esses alelos apresentam uma interação de dominância incompleta, isto é, o fenótipo do heterozigoto é intermediário aos dos dois homozigotos.



- Peixes marcados com **ponto azul** apresentam o alelo que confere armazenamento de grande quantidade de gordura corporal em homozigose (genótipo **A1A1**);
- Peixes **sem marcação** apresentam o alelo que conferem baixa quantidade de armazenamento de gordura corporal em homozigose (genótipo **A2A2**).
- Peixes marcados com **ponto vermelho** apresentam os alelos em heterozigose e capacidade intermediária de armazenamento de gordura (genótipo **A1A2**).

Figura 2.
Esquema representando uma população de peixes em um rio.

Pesquisas antes da instalação da usina hidrelétrica evidenciavam que a proporção fenotípica dos peixes era praticamente constante ao longo dos anos conforme a tabela 1 a seguir.

A seguir tem-se a tabela 2 que representa um estudo realizado no ano de instalação da usina, em 2009, que evidencia a numeração do peixe coletado e a massa corporal em quilogramas.

Tabela 1.

Proporção fenotípica dos peixes encontrada nas pesquisas feitas antes da instalação da usina hidrelétrica.

Fenótipo	Frequência
Grande quantidade de armazenamento de gordura	aprox. 0,1
Armazenamento intermediário de gordura	aprox. 0,3
Baixa quantidade de armazenamento de gordura	aprox. 0,6

Tabela 2.

Dados da coleta de 2009.*

Dados dos peixes coletados em 2009	
Número do peixe	Massa (Kg)
1	3,8
2	2,8
3	2,7
4	2,7
5	1,9
6	1,8
7	1,8
8	1,7
9	1,7
10	1,5

A) A proporção fenotípica de peixes em 2009 está dentro da proporção fenotípica que havia nos anos anteriores à instalação da barragem?

B) Qual seria a frequência dos alelos A1 e A2 nessa população de 2009? Para calcular esses valores, devem ser levados em consideração alguns dados:

- peixes com massa entre 4,0 e 3,0 quilogramas são considerados com grande armazenamento de gordura e seu genótipo é representado por A1A1;
- peixes com massa menor do que 3,0 quilogramas até 2,0 quilogramas são considerados com armazenamento intermediário de gordura e seu genótipo é representado por A1A2;
- peixes com massa menor do que 2,0 quilogramas até 1,0 quilogramas são considerados com baixo armazenamento de gordura e seu genótipo é representado por A2A2.

* A tabela é uma simplificação dos resultados obtidos. Em situação real, a quantidade de peixes analisados deve ser muito maior.

MATERIAIS DIDÁTICOS

- C) Este é um trabalho que exige muita organização por parte de quem realiza os cálculos, a fim de que não ocorram erros durante o processo. Os erros podem resultar de uma visão equivocada a respeito da biodiversidade local. Por isso, é preciso organizar o raciocínio em etapas. Primeiro: encontrar na tabela 2 a quantidade de peixes de cada fenótipo. Completar o quadro a seguir com os valores encontrados.

Frequência fenotípica	2009	
	Grande quantidade de armazenamento de gordura	
	Armazenamento intermediário de gordura	
	Baixa quantidade de armazenamento de gordura	

- D) Em seguida, prosseguir a análise com uma nova etapa: encontrar a frequência alélica. Para isso, obter os dados a partir da contagem direta dos alelos e dividindo o resultado pelo total de alelos. Completar o quadro a seguir com os valores obtidos para a frequência de cada alelo.

Frequência do alelo	2009	
	A	
	B	

Até este ponto do trabalho, o que se tem é uma análise de como estava a condição daquela população de peixes antes da construção da barragem e, consequentemente, do funcionamento da usina hidrelétrica. A partir dessa situação, obtém-se dados referentes aos anos de 2012 e 2015, ou seja, no período de funcionamento da usina hidrelétrica.

- E) Observando-se o quadro 1 referente às coletas realizadas nos anos 2012 e 2015 e comparando-as, pode-se dizer que tais alelos na população encontram-se em equilíbrio? Por quê?

Frequência do alelo	2012		2015	
	A1	0,4	0,9	
A2	0,6		0,1	
A1A1	0,16		0,81	
A1A2	0,48		0,18	
A2A2	0,36		0,01	

Quadro 1.

Dados das coletas realizadas em 2012 e 2015.

F) Após a análise do quadro anterior e da comparação do mesmo com o quadro de 2009, os biólogos, têm dados para concretizar as análises a respeito da interferência do funcionamento da usina hidrelétrica na biodiversidade da população de peixes desta região. Qual a conclusão a que se pode chegar sobre essa interferência a partir das evidências apresentadas até agora?

G) Os biólogos devem escrever um relatório científico evidenciando qual deve ser o posicionamento a respeito da continuidade do funcionamento da usina hidrelétrica. Para isso, utilizar as respostas dadas nas questões C, D, E e F como base de dados para a construção dos argumentos.

PARTE B – COMENTÁRIOS PARA PROFESSORES

Professor, o início da sequência didática investigativa acontecerá com a apresentação do problema que será investigado pelos estudantes ao longo das aulas. É importante que se explore junto com os estudantes essa etapa da sequência didática investigativa, uma vez que é o eixo norteador das atividades. Para isso, é preciso ler o texto com os estudantes e fazer perguntas no sentido de averiguar se eles compreendem o que é um impacto socioambiental; quem é diretamente afetado com a construção de uma usina hidrelétrica; quem se beneficia e quais são os estudos necessários para que se implemente um empreendimento dessa magnitude. Por fim, apresentar a situação problema da figura 1 aos estudantes, mencionando que eles farão parte de um estudo que verificará as perdas da biodiversidade daquele local relacionada à construção da hidrelétrica.

A segunda etapa da sequência didática é apresentar o grupo de organismos a ser estudado: uma população de peixes do rio em que a usina foi instalada. Nesse momento, há uma gama de conceitos biológicos que se pode retomar junto aos estudantes: - cadeias e teias alimentares, níveis tróficos, população, características do grupo parafilético “Peixes”, anádromo e catádromo, e principalmente os conceitos de genética que esta sequência didática investigativa aborda-

rá, como genótipo e fenótipo, genes e alelos, homozigoto, heterozigoto, e dominância incompleta. A figura 2 traz uma representação de uma população de peixes migratórios e suas características genéticas. Observar: - 1. o fenótipo a ser analisado é o da capacidade de armazenamento de gordura corporal; 2. - os indivíduos que possuem genótipo que confere maior capacidade de armazenamento de gordura terão mais chances de reprodução; 3. - além disso, os indivíduos que possuem genótipo que confere armazenamento intermediário de gordura também terão chances de reprodução, porém menores, se comparados aos de grande armazenamento de gordura; 4. - já os indivíduos que possuem genótipo que confere pouca armazenagem de gordura terão as menores chances de reprodução; 5. - nessa parte da atividade, é necessário relacionar a figura 1 com a figura 2, para que os estudantes reconheçam que os peixes com maiores capacidades de estocar gordura corporal terão também maiores chances de chegar ao final do percurso migratório e se reproduzir.

Na atividade subsequente, inicia-se um estudo mais aprofundado da população de peixes do ponto de vista genético. A partir disso, os estudantes são levados a analisar as tabelas 1 e 2 e fazer os cálculos necessários para compreender como estava a população de peixes até o momento antes da instalação da usina hidrelétrica (ano de 2009). Em seguida, os estudantes deverão comparar estudos de anos posteriores (2012 e 2015) para verificar

MATERIAIS DIDÁTICOS

se a população de peixes estudada se manteve em equilíbrio ao longo desses anos. Por fim, a última atividade da sequência envolve a compreensão do problema investigado. É preciso estimular os estudantes a utilizarem os dados analisados para que compreendam o que aconteceu com a população de peixes daquele local e assim possam escrever o relatório final. É importante que os estudantes compreendam que, ao analisar a biodiversidade de um local, é preciso considerar fatores que vão além da mera contagem de espécies. No caso desta atividade, mostramos que a instalação da barragem de uma usina hidrelétrica influenciou diretamente na variabilidade genética de peixes, o que implica em mudanças na biodiversidade em nível genético da população de indivíduos. Desse modo, o que este trabalho propõe é a ampliação do conceito de biodiversidade, evidenciando que a biodiversidade caracteriza-se também pela variabilidade genética entre os indivíduos de uma população e que alterações na variabilidade podem alterar a sobrevivência dos indivíduos e, consequentemente, da espécie.

RESPOSTAS ESPERADAS PARA AS PERGUNTAS

As atividades A e B apresentam as perguntas mais gerais que irão nortear os cálculos das atividades subsequentes, C e D. É importante que o professor enfatize aos estudantes que estas etapas são importantes para a organização do raciocínio e da compreensão do fenômeno biológico em questão.

Nas primeiras atividades (A, B, C e D) os estudantes analisam a tabela 2 para calcular a frequência fenotípica dos peixes. Como existe apenas 1 peixe com massa entre 4,0kg e 3,0kg, num universo de 10 peixes, portanto a frequência deste fenótipo é de $1/10 = 0,1$. Para o fenótipo de armazenamento intermediário de gordura tem-se 3 peixes com massa menor do que 3,0kg e até 2,0kg. Portanto, a frequência deste fenótipo é de $3/10 = 0,3$. Por fim, para o fenótipo de baixa quantidade de armazenamento de gordura tem-se 6 peixes com massa menor do que 2,0kg e até 1,0kg. Logo, a frequência deste fenótipo é de $6/10 = 0,6$.



	2009
Frequência fenotípica	
Grande quantidade de armazenamento de gordura	0,1
Armazenamento intermediário de gordura	0,3
Baixa quantidade de armazenamento de gordura	0,6

A partir disso, os estudantes podem concluir (para a pergunta do item A) que a população encontra-se dentro da proporção fenotípica esperada, uma vez que os valores encontrados estão de acordo com os valores da tabela 1.

Para o cálculo da frequência alélica, pode-se utilizar a contagem direta dos alelos.

Para o alelo A1 tem-se: 1 indivíduo A1A1 e 3 indivíduos A1A2, logo tem-se 5 alelos A1 dentre os indivíduos mencionados. Para o alelo A2 tem-se: 6 indivíduos A2A2 e 3 indivíduos A1A2, logo tem-se 15 alelos A2 dentre os indivíduos mencionados. Portanto, para A1 a frequência é $5/20 = 0,25$ e para A2 a frequência é $15/20 = 0,75$.

	2009
Frequência do alelo	
A	0,25
B	0,75



A questão E apresenta o quadro 1 que traz os estudos realizados em 2012 e 2015 com aquela população de peixes. Neste momento, os estudantes devem comparar os dados de 2009, calculados por eles mesmos, com os dados encontrados nesta tabela. A comparação irá levá-los a perceber que os alelos nesta população não se encontram mais em equilíbrio, uma vez que as frequências alélicas sofreram alterações ao longo das gerações. Em 2009, a frequência alélica era de 0,25 para o alelo A1 e 0,75 para o alelo A2, ao passo que em 2015 a frequência encontrada foi de 0,6 para o alelo A1 e 0,4 para o alelo A2. Estimular os estudantes a utilizarem dados para argumentar em suas respostas, pois é uma etapa importante do ensino por investigação.

A questão F requer um posicionamento dos estudantes sobre a interferência da usina hidrelétrica na biodiversidade dos peixes. A partir dos dados levantados nas questões anteriores, os estudantes devem afirmar que houve uma alteração na variabilidade genética dos peixes daquela região, ou seja, houve alteração na biodiversidade em nível genético

devido à interferência da usina hidrelétrica na dinâmica da população de peixes. Uma evidência disso é a variação das frequências alélicas e fenotípicas dos peixes ao longo dos anos de estudo. Estes devem ser os dados que os estudantes utilizarão em suas respostas para dar subsídio aos argumentos. É importante estimular os estudantes a utilizarem os dados numéricos ao longo da construção do argumento.

Por fim, a questão G requer que os estudantes retomem o problema inicial e utilizem o conhecimento adquirido ao longo da sequência para responder. É esperado que cheguem à conclusão de que a usina hidrelétrica ocasionou impactos significativos na diversidade em nível genético da população de peixes, uma vez que as frequências alélicas e fenotípicas encontradas antes da construção da usina hidrelétrica (2009) são bem diferentes daquelas encontradas quando a usina já estava em funcionamento (2012 e 2015). Além disso, os estudantes precisam se posicionar perante essa situação e argumentar se a usina hidrelétrica deve ou não ser reativada.

A importância da genética na conservação de espécies ameaçadas: um modelo didático envolvendo o manejo de populações pequenas*



Cibele de Cássia Silva^{1,2}, Tatiana Souza do Amaral^{1,2}, Rosane Garcia Collevatti¹

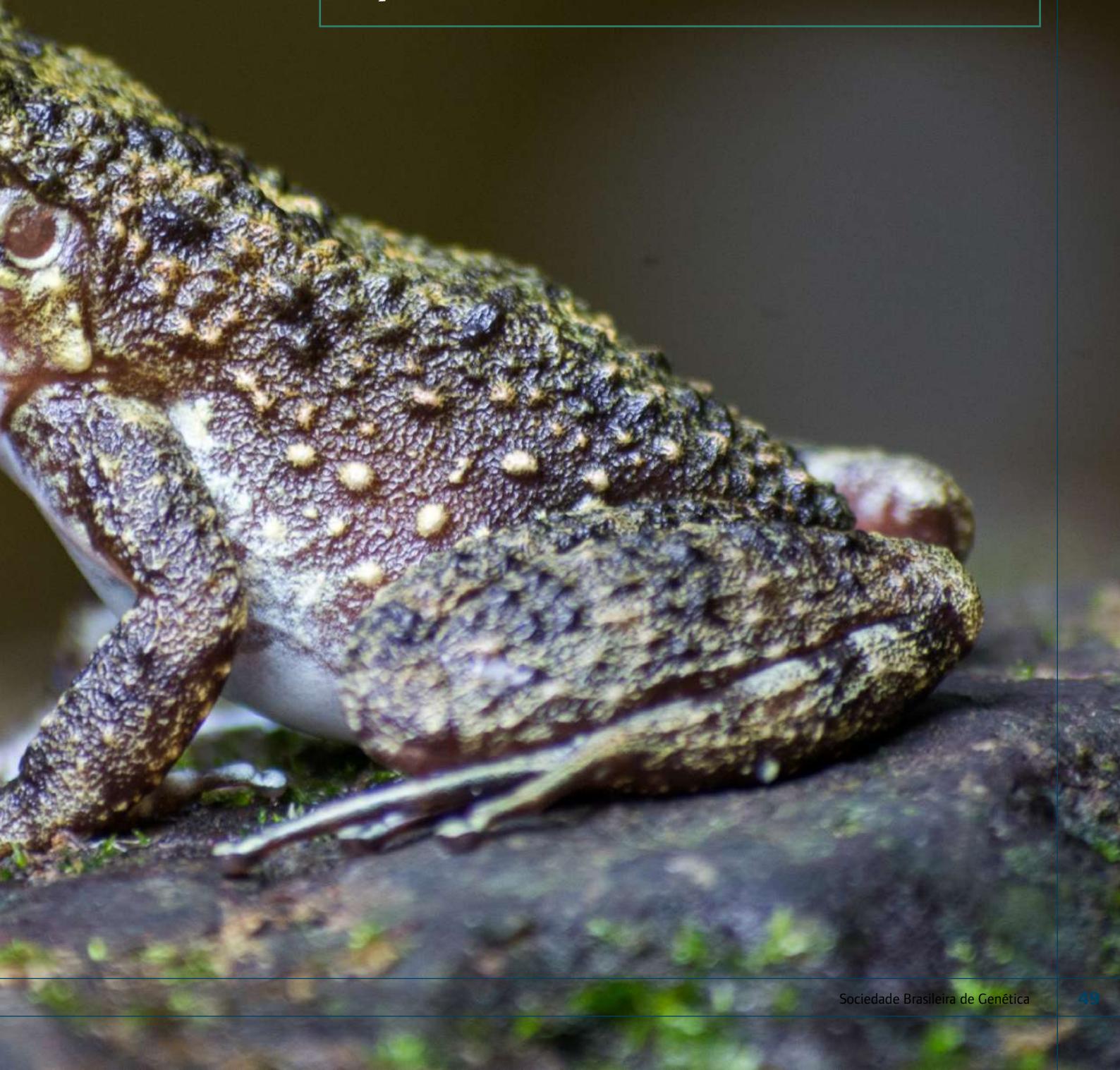
¹ Laboratório de Genética & Biodiversidade, ICB, Universidade Federal de Goiás (UFG) Goiânia

² Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução, ICB, Universidade Federal de Goiás (UFG), Cx.P. 131, 74001-970, Goiânia

Autor para correspondência: rosanegc68@hotmail.com

* Material didático elaborado para alunos do Ensino Superior, desenvolvido na disciplina de Genética da Conservação, coordenado pela Profa. Rosane Garcia Collevatti, do curso de graduação em Ecologia e Análise Ambiental do Departamento de Ecologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás.

Para auxiliar no ensino de Genética da Conservação, é proposta uma atividade que demonstra como a análise de diversidade genética e endogamia podem auxiliar no processo de tomada de decisão referente à conservação de espécies ameaçadas. A atividade pode ser utilizada como simulação de aula prática ou como uma atividade complementar à aula expositiva para alunos de ensino superior.



FUNÇÃO PEDAGÓGICA

Endogamia é acasalamento entre indivíduos aparentados que leva ao aumento da homozigose e diminuição da heterozigose.

Tamanho efetivo populacional é o número de indivíduos que uma população idealizada deverá ter para que ela represente uma população real com o mesmo tamanho, em relação à endogamia, ou à deriva ou a algum parâmetro genético de interesse.

Diversidade genética é a quantidade de variação genética contida em uma determinada população.

Conservação in situ é a conservação de espécies nos seus respectivos habitats naturais.

Um dos principais desafios da biologia da conservação é preservar espécies que possuem populações pequenas. De fato, essas espécies estão em risco de extinção eminentemente uma vez que muitas apresentam **depressão endogâmica** causada pelo acasalamento entre indivíduos aparentados (**endogamia**).

Além disto, a redução do **tamanho efetivo populacional** leva a uma redução da **diversidade genética**. A redução da diversidade genética pode deixar as populações mais suscetíveis à infecção por patógenos e mais propensas a doenças devido à perda de alelos ou genótipos que proporcionam resistência. A baixa diversidade genética pode diminuir o potencial adaptativo da espécie frente às mudanças ambientais devido à perda de alelos.

Diferentes estratégias de manejo podem ser adotadas visando a conservação de populações naturais com risco iminente de extinção. Reintroduções e translocações, por exemplo, são estratégias comumente adotadas em planos de manejo. A reintrodução consiste na recomposição de indivíduos, muitas vezes de cativeiros, em habitats onde já existiram. Translocação é o manejo de uma população inteira para outro habitat devido ao risco iminente de seu habitat natural ser extinto ocasionado, por exemplo, pelo alagamento para instalação de hidroelétricas ou o desmatamento. De modo geral, a ocorrência de grandes obras com alto impacto ambiental como, por exemplo, a instalação de mineradoras, construção de rodovias e hidroelétricas requer a adoção de estratégias de translocações visando a conservação de populações naturais locais, devido à intensa modificação do habitat natural. No entanto, devido aos riscos inerentes, estas estratégias exigem estudos prévios aprofundados sobre ecologia (ex: interações, dieta, modo reprodutivo) e genética das populações a serem manejadas. Caso esses estudos prévios não sejam realizados, a probabilidade de declínio populacional das espécies manejadas é alta. Adicionalmente, práticas de **conservação ex situ**, as quais incluem reprodução de indivíduos em cativeiros, podem ser adotadas a fim de manter viáveis as populações **in situ**.

No problema desta atividade propomos aos estudantes comparar os parâmetros genéticos populacionais e **pedigrees** de cinco populações candidatas ao processo de reintrodução. Após a comparação e a avaliação desses parâmetros, propomos aos estudantes a tomada de decisão sob qual população remanescente ou indivíduos poderão ser utilizados para reintrodução em outro local, de acordo com diferentes cenários hipotéticos.

Neste problema hipotético, uma espécie fictícia de sapo, o *Sapus hipoteticus*, apresentava distribuição restrita a uma determinada região do litoral brasileiro e a um arquipélago próximo a este litoral (Painel 1). Devido à especulação imobiliária e à urbanização, a espécie não é mais encontrada no litoral, sendo considerada extinta no continente, e possui populações

Depressão endogâmica é a perda de valor adaptativo na prole devido ao acasalamento entre indivíduos aparentados (endogamia).

Conectividade é a capacidade que uma paisagem possui em facilitar ou dificultar o movimento dos organismos entre as manchas de habitat.

Conservação ex situ é a conservação de espécies fora de seus habitats naturais.

Pedigree é a representação gráfica dos padrões de herança genética em uma família.

remanescentes somente nas cinco ilhas do arquipélago. Para recompor a população da espécie no continente, programas de conservação visam reintroduzir a espécie no litoral a partir das populações das ilhas do arquipélago. Assim sendo, a primeira medida tomada no processo de manejo de *S. hipoteticus* foi realizar análises da diversidade genética de todas as cinco populações remanescentes no arquipélago, para evitar que a reintrodução gere uma população com baixa diversidade genética.

Foram coletados indivíduos de *S. hipoteticus* das cinco populações encontradas no arquipélago e estimados três parâmetros genéticos populacionais: a diversidade genética da população, que pode ser estimada pela heterozigosidade esperada pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg (He), a proporção de indivíduos heterozigotos na população (Ht) e o coeficiente de endogamia (f). Posteriormente, foi estabelecido o parentesco entre os indivíduos e feito um pedigree para auxiliar na tomada de decisão de reintrodução no continente. Embora esse não seja o cenário ideal, é o mais adequado, considerando a ausência de dados da composição genética da população extinta no continente. Caso houvesse estudos genéticos disponíveis na literatura, a tomada de decisão sobre qual ilha seria a melhor fonte de indivíduos para a reintrodução no continente seria baseada em métodos genéticos comparativos. No entanto, devido à ausência de informação, o critério adotado pelos pesquisadores para a escolha da população fonte foi o de maior diversidade genética visando diminuir o risco de um possível problema futuro de depressão por endogamia. Ademais, estudos prévios de monitoramento de fauna indicaram que o tamanho efetivo populacional de *Saprus hipoteticus* e as condições ambientais são bastante similares nas cinco ilhas, o que também contribuiu para tomada de decisão dos pesquisadores sobre qual ilha seria a melhor fonte de indivíduos se fosse baseada apenas em parâmetros genéticos populacionais.

Para as análises de diversidade genética, os pesquisadores coletaram indivíduos de *S. hipoteticus* das cinco populações encontradas no arquipélago e posteriormente estimaram três parâmetros genéticos populacionais: a

diversidade genética da população, que pode ser estimada pela heterozigosidade esperada pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg (He), a proporção de indivíduos heterozigotos na população (Ht) e o coeficiente de endogamia (f). Após o cálculo desses parâmetros, os pesquisadores estabeleceram as relações de parentesco entre os indivíduos de cada ilha através de um pedigree para auxiliar na tomada de decisão de reintrodução no continente.

Para resolver a proposta, os alunos deverão:

1. Analisar os parâmetros genéticos das cinco populações (Painel 2) de *S. hipoteticus*;
2. Identificar qual a população mais adequada para fazer a reintrodução baseada nos parâmetros genéticos;
3. Analisar os pedigrees das cinco populações (Painel 3) de *S. hipoteticus*;
4. Identificar quais os indivíduos apropriados para fazer a reintrodução, baseado nos pedigrees, de acordo com os diferentes cenários apresentados.

INSTRUÇÕES PARA O PROFESSOR

1. Esta atividade poderá ser realizada individualmente, ou em grupos de alunos de, no máximo, quatro pessoas.
2. Cada grupo deverá receber o problema proposto, uma cópia do procedimento para realizar a atividade, uma cópia de cada painel e das questões para serem discutidas.
3. É recomendável que o professor aplique esta atividade após a definição de conceitos básicos de genética de populações.

Distribuição do Material aos Grupos

Os recursos didáticos que deverão ser utilizados consistem em três painéis, conforme descrito a seguir. Todos os grupos deverão receber uma cópia de cada painel (material do Apêndice):

1. Painel 1 – mapa mostrando o arquipélago onde ainda são encontradas as populações de *Saprus hipoteticus*, e o continente, onde a espécie não existe mais.

IUCN é a lista vermelha da união internacional para a conservação da natureza.

MATERIAIS DIDÁTICOS

2. Painel 2 – tabela com os dados de heterozigosidade esperada (H_e), heterozigosidade observada (H_I) e coeficiente de endogamia (f) das cinco populações de *S. hipoteticus* encontradas no arquipélago.

3. Painel 3 – pedigrees dos indivíduos das cinco populações de *S. hipoteticus* encontradas em diferentes regiões do arquipélago.

Procedimento para os estudantes

1. Ler com atenção o tema proposto.
2. Observar o mapa da distribuição no Painel 1.
3. Analisar a Tabela do Painel 2 que contém os parâmetros genéticos populacionais das cinco populações de *S. hipoteticus* encontradas no arquipélago, diversidade genética ou heterozigosidade esperada pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg (H_e), proporção de indivíduos heterozigotos (H_I), o coeficiente de endogamia (f).
4. Baseado-se nos três parâmetros genéticos, indique qual seria a população mais adequada para fazer a reintrodução no continente e justifique sua resposta.
5. Analisar os pedigrees de cada população no Painel 3. Em cada pedigree, indique com um traço os acasalamentos entre indivíduos aparentados (por exemplo:



6. De acordo com o pedigree de cada população, escolha o(s) pedigree(s) mais adequado(s) para serem utilizado(s) na reintrodução. Além disso, indique nos pedigrees os acasalamentos entre pais com duas linhas. Após escolher o(s) pedigree(s), escolha, dentro deste(s) pedigree(s), os indivíduos mais adequados para reintrodução, considerando os seguintes cenários:

- 1) cenário 1: escolher apenas um pedigree (reintrodução de indivíduos de apenas uma população e um pedigree):
 - 1a. com reintrodução de quatro indivíduos;
 - 1b. com reintrodução de seis indivíduos;
 - 1c. com reintrodução de oito indivíduos.
- 2) cenário 2: escolher mais de um pedigree (reintrodução de indivíduos de diferentes pedigrees):
 - 2a. com reintrodução de quatro indivíduos;
 - 2b. com reintrodução de seis indivíduos;
 - 2c. com reintrodução de oito indivíduos.



PAINÉIS

PAINEL 1.

Mapa do arquipélago onde ainda são encontradas as populações de *S. hipoteticus*, e do continente, onde a espécie não existe mais.



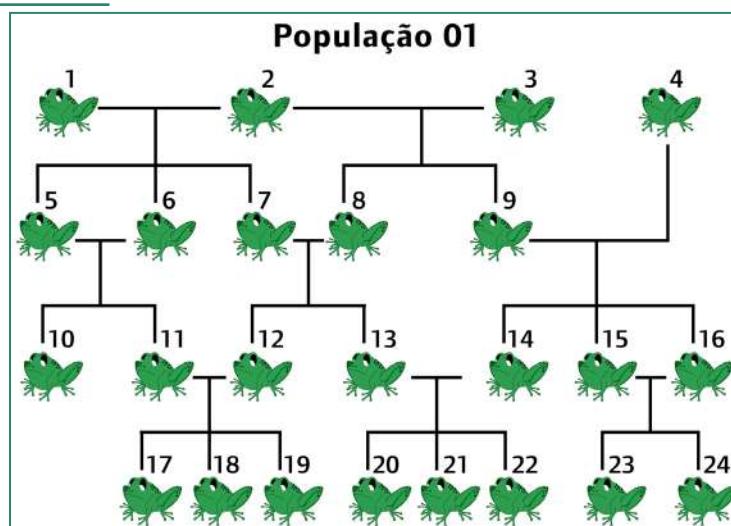
PAINEL 2.

Tabela com os valores de heterozigosidade esperada (H_e), heterozigosidade observada (H_i) e coeficiente de endogamia (f) das cinco populações de *S. hipoteticus* encontradas no arquipélago.

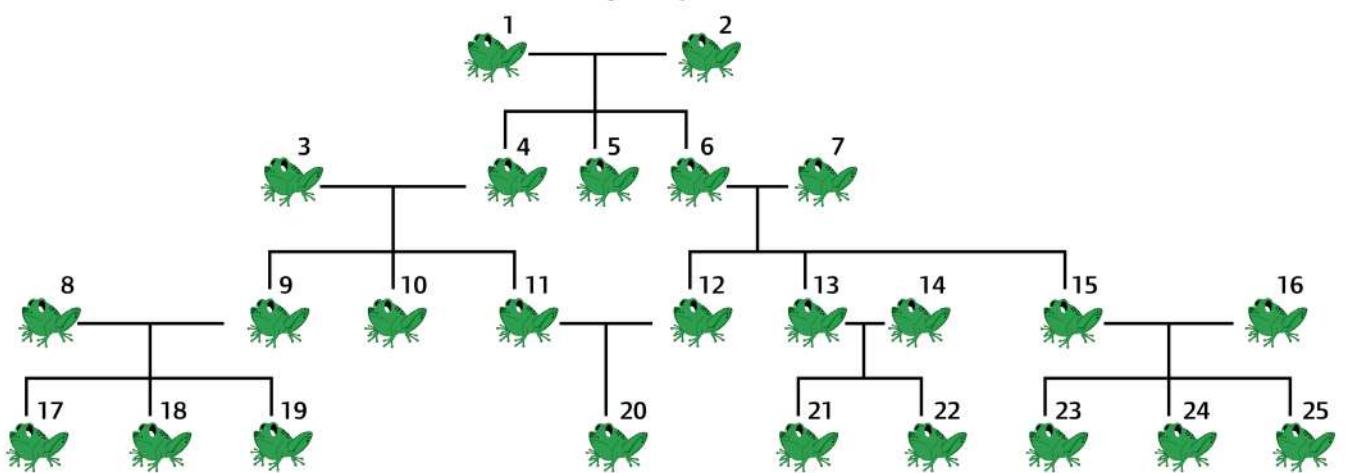
Populações	H_e	H_i	f
População 01	0,21	0,15	0,29
População 02	0,47	0,38	0,19
População 03	0,39	0,30	0,24
População 04	0,11	0,05	0,51
População 05	0,52	0,52	0,00

PAINEL 3.

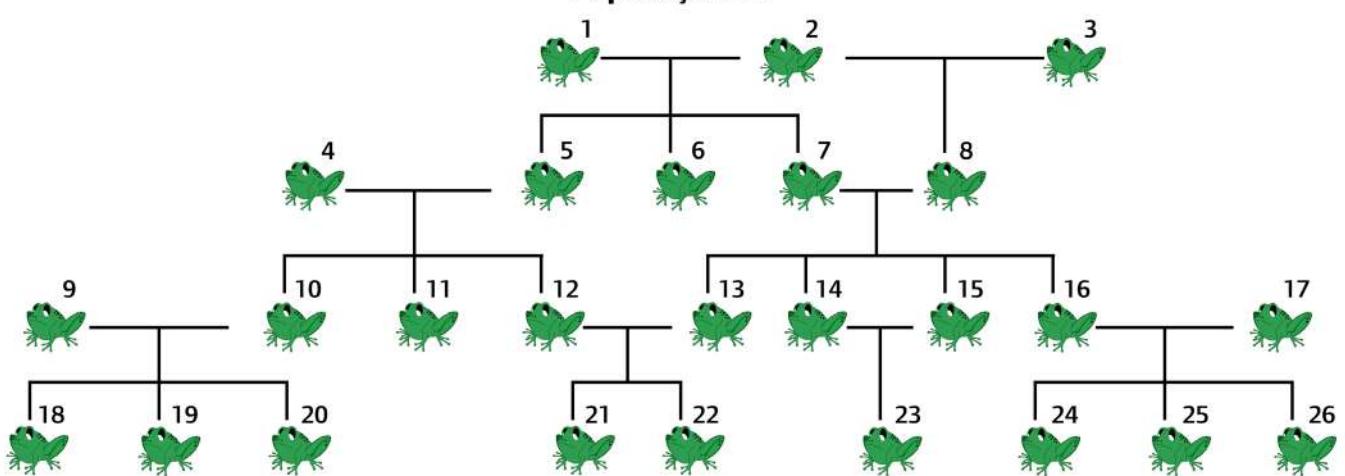
Pedigrees das cinco populações de *S. hipoteticus* encontradas em diferentes regiões do arquipélago.



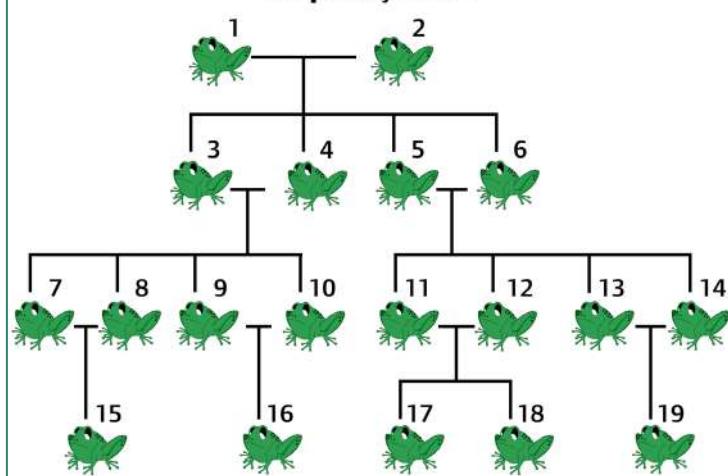
População 02

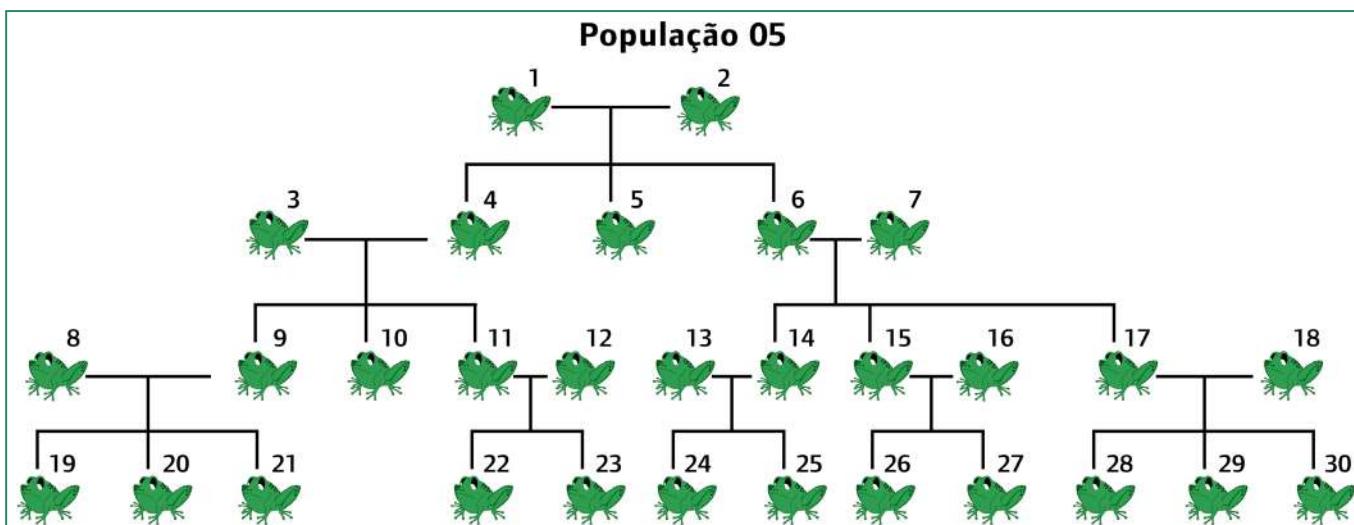


População 03



População 04



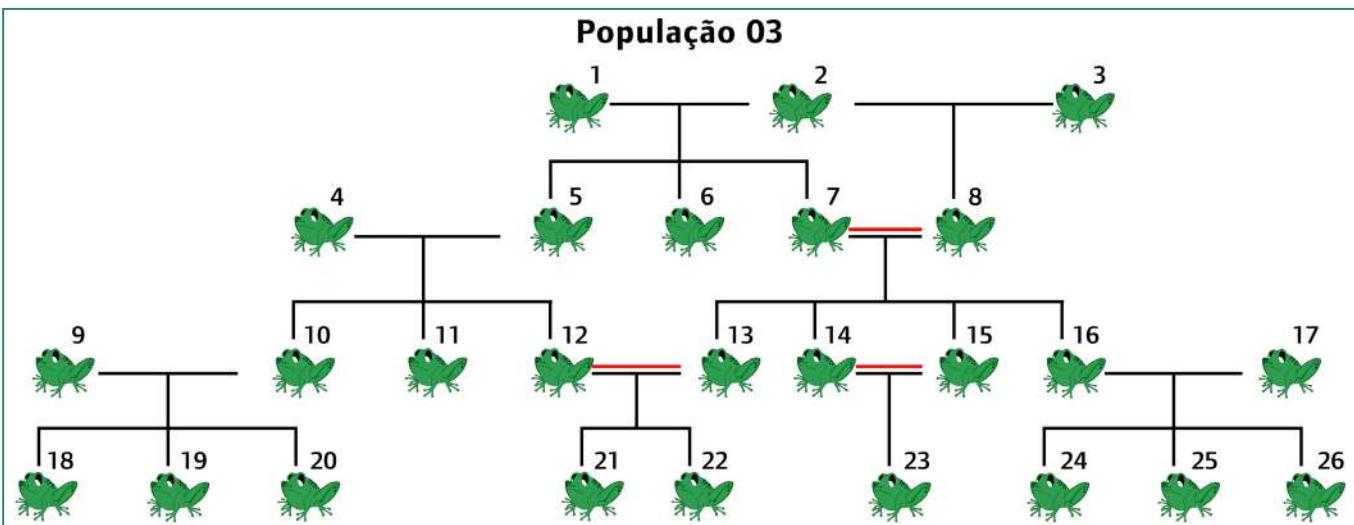
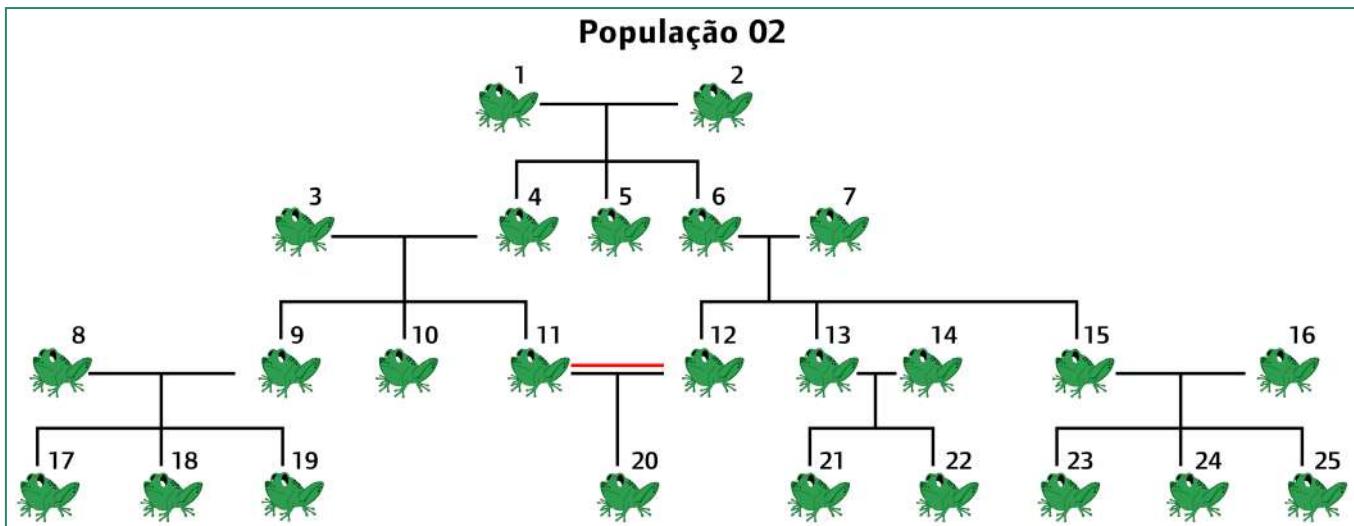
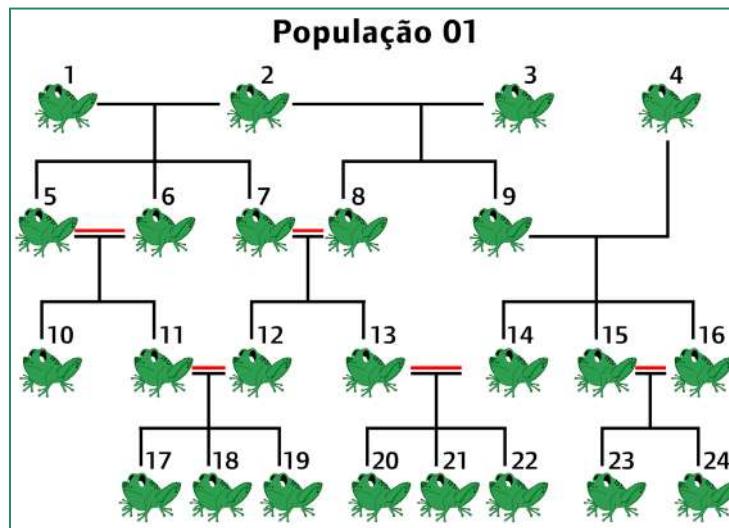


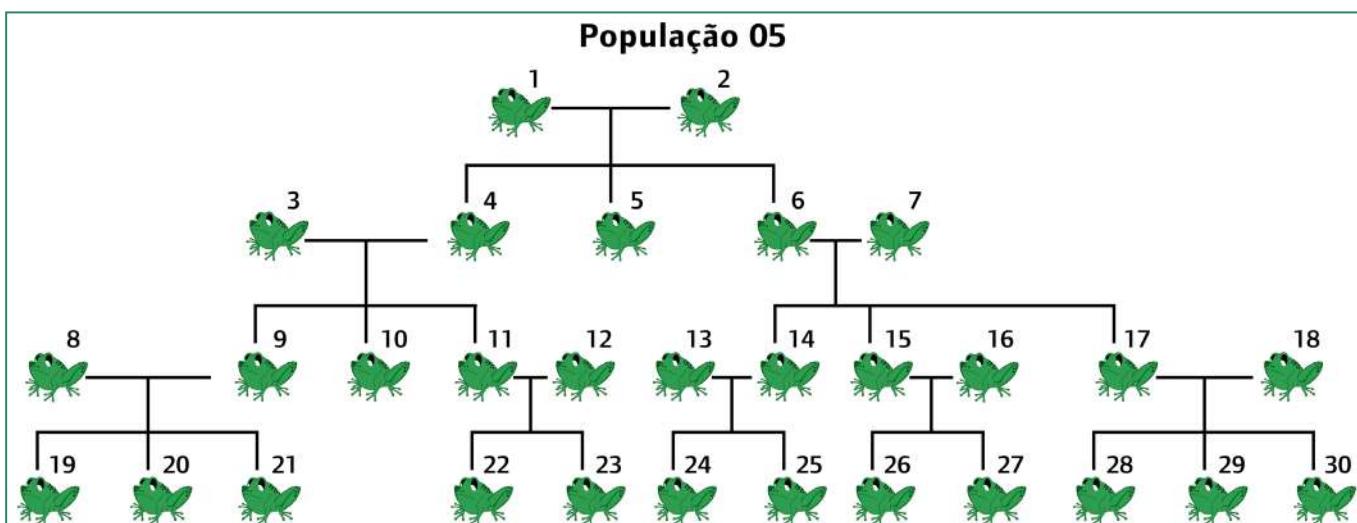
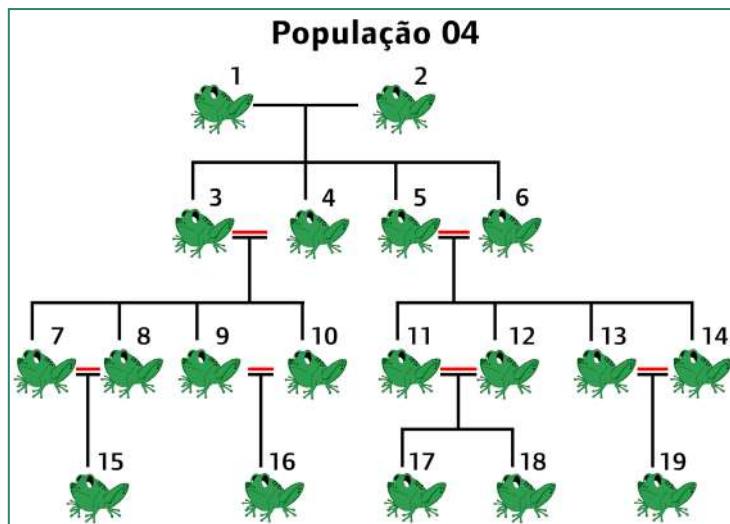
ENTENDENDO A ATIVIDADE

- As áreas naturais remanescentes estão cada vez menores e fragmentadas. Consequentemente, há um declínio no tamanho das populações naturais de plantas e animais devido à perda de habitat. Por que espécies com populações pequenas estão mais suscetíveis à extinção? Considere na sua resposta, as questões genéticas apresentadas na atividade.
- Por que a avaliação do pedigree é importante no processo de tomada de decisão de programas de cruzamento em cativeiro e reintrodução?
- A perda de aptidão das populações em consequência do acasalamento entre indivíduos parentados, sobretudo em populações pequenas, é um fator de extrema importância para a biologia da conservação. Entretanto, as reintroduções e translocações devem ser feitas com muito cuidado e após um estudo detalhado das populações em questão. Entre algumas consequências negativas de misturar populações sem estudos prévios e detalhados está a depressão exogâmica. Defina o que é depressão exogâmica e enumere alguns fatores que podem levar as populações à depressão exogâmica.
- As mudanças climáticas ou ambientais estão ocorrendo de forma acelerada. Diante de um mundo em mudanças as espécies podem extinguir, migrar ou adaptar. Explique a relação entre diversidade genética e resposta a mudanças ambientais.

RESPOSTAS

1. Em cada pedigree, indique com um traço os acasalamentos entre indivíduos aparentados:





Questões

1. Indique qual seria a população mais adequada para fazer a reintrodução baseado-se nestes parâmetros. Justifique sua resposta

Resposta: as duas populações mais adequadas para fazer a reintrodução são: População 5 e População 2, pois essas populações apresentam

os maiores valores de heterozigosidade e os menores coeficientes de endogamia.

2. Indique o(s) pedigree(s) mais adequado(s) para ser(em) utilizado(s) na reintrodução. Após escolher o(s) pedigree(s), escolha, dentro deste(s) pedigree(s), os indivíduos mais adequados para reintrodução, considerando os seguintes cenários:

MATERIAIS DIDÁTICOS

1) cenário 1: escolher apenas um pedigree (reintrodução de indivíduos de apenas um pedigree):

Resposta: pedigree 5, pois é a população que apresenta maior heterozigose, menor coeficiente de endogamia e não possui cruzamento entre indivíduos aparentados.

1a. com reintrodução de quatro indivíduos;

1b. com reintrodução de seis indivíduos;

1c. com reintrodução de oito indivíduos.

Resposta: uma vez escolhido o pedigree 5, existem várias possibilidades. O importante é que os indivíduos escolhidos não sejam irmãos, nem pai e filho.

2) cenário 2: escolher mais de um pedigree (reintrodução de indivíduos de diferentes pedigrees):

Resposta: pedigree 5 e pedigree 2, pois são as populações com maior heterozigose e menor coeficiente de endogamia. O pedigree 3 seria um pedigree intermediário que também pode ser escolhido. Só não podem ser escolhidos os pedigrees 1 e 4, pois eles possuem alto índice de endocruzamento.

2a. com reintrodução de quatro indivíduos;

2b. com reintrodução de seis indivíduos;

2c. com reintrodução de oito indivíduos.

Resposta: uma vez escolhida o pedigree 5 e o pedigree 2, também pode ser escolhido o pedigree 3. Na verdade aqui também existem várias possibilidades, o importante é que os indivíduos escolhidos não sejam irmãos, pai e filho e que tenham indivíduos dos dois ou três pedigrees. Os indivíduos dentro dos círculos vermelhos são os indivíduos provenientes de outras famílias. Os traços vermelhos indicam cruzamento entre indivíduos aparentados.

Justifique suas respostas.

Resposta: O primeiro critério para escolha seriam as populações com menos endocruzamentos. Posteriormente, dentro destas populações, o critério para escolha dos indivíduos é o grau de parentesco entre eles, ou seja, o objetivo é escolher aqueles indivíduos com menor grau de parentesco. Obs.: Os indivíduos dentro dos círculos vermelhos são os indivíduos provenientes de outras famílias.

Entendendo a atividade

1. As áreas naturais remanescentes estão cada vez menores e fragmentadas. Consequentemente, há um declínio no tamanho das populações naturais de plantas e animais devido à perda de habitat. Por que espécies com populações pequenas estão mais suscetíveis à extinção? Considere na sua resposta, as questões genéticas apresentadas na atividade.

Resposta: Em populações pequenas há uma maior frequência de endocruzamentos. O endocruzamento pode causar uma diminuição no valor adaptativo da prole. Isso ocorre devido ao decréscimo da heterozigose e ao aumento da homozigose, a qual pode levar à expressão de alelos deletérios. Além disso, a redução do tamanho populacional ocasiona a perda de diversidade genética devido principalmente à deriva genética aleatória. A perda de diversidade genética, por sua vez, pode diminuir o potencial adaptativo futuro de uma espécie diante das mudanças ambientais.

2. Por que a avaliação do pedigree é importante no processo de tomada de decisão de programas de cruzamento em cativeiro e reintrodução?

Resposta: A avaliação do pedigree é importante para verificar o nível de parentesco dos indivíduos que serão introduzidos a fim de evitar a introdução ou reintrodução de indivíduos muito aparentados e ocasionar problemas futuros de depressão endogâmica. Quanto menor o grau de parentesco entre os indivíduos de população, menor será a endogamia e, consequentemente, o risco de depressão endogâmica também será menor.

3. A perda de aptidão das populações em consequência do acasalamento entre indivíduos parentados, sobretudo em populações pequenas, é um fator de extrema importância para a biologia da conservação. Entretanto, as reintroduções e translocações devem ser feitas com muito cuidado e após um estudo detalhado das populações em questão. Entre algumas consequências negativas de misturar populações sem estudos prévios e detalhados está a depressão exogâmica. Defina o que é depressão exogâmica e enumere alguns fatores que podem levar as populações à depressão exogâmica.

Resposta: Depressão exogâmica é a redução da aptidão na prole devido ao acasalamento entre indivíduos não relacionados. Os principais fatores que podem levar à depressão exogâmica são: a) misturar indivíduos de populações muito divergentes; b) misturar indivíduos de populações adaptadas a habitats diferentes; c) misturar indivíduos de populações com diferenças cromossômicas já fixadas; d) misturar indivíduos de populações que não apresentam

fluxo gênico entre elas há muito tempo (mais de 500 anos).

4. As mudanças climáticas ou ambientais estão ocorrendo de forma acelerada. Diante de um mundo em mudança, as espécies podem extinguir, migrar ou adaptar. Explique a relação entre diversidade genética e resposta a mudanças ambientais.

Resposta: A adaptação in situ, seja morfológica ou fisiológica, a novas condições ambientais assim como a capacidade de sobrevivência em um “novo habitat” após a migração são em grande parte dependentes da diversidade genética da população. A redução da diversidade pode, por exemplo, deixar as populações naturais mais propensas a patógenos e doenças devido à perda de alelos ou genótipos que proporcionam resistência. A perda de alelos e genótipos também leva a uma diminuição do potencial adaptativo da espécie diante de mudanças climáticas, pois alelos que poderiam conferir adaptação às condições climáticas diferentes daquelas encontradas em seu habitat natural podem ter sido perdidos. De um modo geral, a manutenção da diversidade genética é o ponto de partida para as respostas adaptativas das espécies às mudanças ambientais.

Fluxo gênico é qualquer movimento de alelos de uma população para outra, é também referido como migração.



Variação adaptativa em caracteres quantitativos: estimando a resposta à seleção natural a partir da herdabilidade para inferir o potencial evolutivo*

Tatiana Souza do Amaral^{1,2}, Cibele de Cássia Silva^{1,2}, Rosane Garcia Collevatti¹

¹ Laboratório de Genética & Biodiversidade, ICB, Universidade Federal de Goiás (UFG) Goiânia

² Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução, ICB, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia

Autor para correspondência: rosanegc68@hotmail.com

* Material didático desenvolvido na disciplina de Genética da Conservação, coordenado pela Profa. Rosane Garcia Collevatti, do curso de graduação em Ecologia e Análise Ambiental do Departamento de Ecologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, como uma atividade do Estágio Docência (bolsistas CAPES/UFG) dos discentes do Programa de Pós-graduação em Ecologia e Evolução.



Esta proposta de atividade é voltada para alunos do Ensino superior como material didático para o ensino de Genética da Conservação, mostrando como alguns princípios da genética de populações e quantitativa podem ser utilizados para compreender a resposta à seleção natural por meio de estudos da variação adaptativa das espécies. Os dados são hipotéticos e podem ser utilizados como simulação de aula prática, ou como uma atividade complementar à aula expositiva.

FUNÇÃO PEDAGÓGICA

Seleção natural é a sobrevivência ou reprodução diferencial de indivíduos devido às suas características herdáveis. Geralmente é medida pelo sucesso reprodutivo ou sobrevivência diferencial, ou ainda pela diferença em características adaptativas.

Variação genética adaptativa é a variação genética de um loco que está sob seleção e confere maior valor adaptativo para o indivíduo.

Genótipo é a composição genética de um indivíduo.

A manutenção do **potencial evolutivo** das espécies depende, entre outros fatores, da variação de características que conferem adaptação aos seus indivíduos, e por isso, a variação genética adaptativa é um ponto importante para a elaboração de planos de manejo e conservação. Assim, o principal objetivo desta atividade é demonstrar aos alunos como a **seleção natural** sob uma **característica quantitativa** pode atuar sob diferentes condições ambientais e afetar a **variação adaptativa** de uma população. Para isso os alunos deverão utilizar conceitos para entender: - o que são características quantitativas; - como ocorre a herança dessas características; - o que é herdabilidade e como é calculada para características quantitativas; - como estimar a resposta da característica ao longo das gerações devido às mudanças ambientais.

PROBLEMA PROPOSTO

A mudança ambiental, tanto física quanto biótica, é um processo contínuo. Parasitas e doenças alcançam novas localidades, desenvolvem novas formas, mudam ou atacam novos hospedeiros. O clima e o espaço alteram-se ao longo do tempo. Para sobreviver a tais mudanças, as espécies devem adaptar-se às alterações ambientais às quais estão sujeitas.

Para adaptar-se, as espécies precisam ter variação genética. A variação entre indivíduos é o material bruto sobre o qual a seleção opera de forma a que as espécies possam se adequar às alterações ambientais. A variação genética adaptativa é o principal determinante do potencial evolutivo das espécies, e é o potencial evolutivo que possibilita às espécies responderem às mudanças ambientais, possibilitando **adaptação** (FRANKHAM *et al.*, 2008). Quanto maior a variação fenotípica herdável, maior o potencial evolutivo da espécie.

Grande parte das características encontradas em plantas e animais são herdadas quantitativamente, fazendo com que muitos genes controlem uma característica, cada um contribuindo com um pequeno efeito sobre a expressão fenotípica. Esse é o caso de características em plantas como altura, diâmetro do tronco, peso e comprimento das sementes. A variação destas características possui **herança poligênica** e sua variação é, portanto, contínua. As características quantitativas são de grande importância para a genética da conservação, pois muitas delas determinam o sucesso reprodutivo e a sobrevivência dos indivíduos (FRANKHAM *et al.*, 2008).

A variabilidade das características quantitativas é devida a efeitos ambientais e genéticos. É possível ver a influência do ambiente em características relacionadas à altura e ao diâmetro do tronco das plantas, por exemplo. Estas características variam não só devido ao **genótipo** dos indivíduos, mas de acordo com a quantidade de nutrientes que a planta encontrou e das doenças que a afetaram durante o desenvolvimento. O fenótipo de um indivíduo é a somatória das influências

Potencial evolutivo é a capacidade inata de que uma determinada população para evoluir, isto é, a capacidade da população em apresentar mudanças nas frequências alélicas ao longo das gerações, acompanhando as mudanças ambientais.

Características quantitativas são as que podem ser medidas e que apresentam distribuição contínua nas populações. Tais caracteres são normalmente controlados por vários genes e sujeitos a influências ambientais.

Adaptação é uma característica ou são características particulares de um indivíduo que permitem a sobrevida ou a reprodução eficiente em um determinado ambiente.

Herança poligênica acontece quando vários genes interagem para determinar uma característica, cada um com efeito aditivo sobre o outro.

ambientais e genotípicas, o que é o modelo fundamental da genética quantitativa:

$$\text{Fenótipo} = \text{Genótipo} + \text{Ambiente}$$

Os efeitos genotípicos, por sua vez, podem ser divididos em efeitos aditivos (A), que são herdados pela progênie, e efeitos de dominância (D), não herdados pela progênie. O efeito aditivo é um elemento chave para o entendimento da evolução de características quantitativas, pois na herança quantitativa não se conhece o genótipo, apenas medidas do fenótipo. É o efeito aditivo que nos permite saber como os genes dos pais são transmitidos para a descendência em uma característica quantitativa. Por ser um elemento herdável, o efeito aditivo é o responsável pelo potencial evolutivo das espécies.

Para medir como uma característica quantitativa é transmitida de uma geração para a outra é preciso conhecer a **herdabilidade**.

A herdabilidade é a proporção herdável da variação fenotípica e determina o potencial evolutivo imediato de uma população. A herdabilidade é específica para cada característica medida e para a população na qual foi mensurada. Requer também que a variação fenotípica da característica em questão seja devida, ao menos em parte, a diferenças genéticas entre os indivíduos. Existem dois tipos de herdabilidade: sentido amplo e sentido estrito.

A herdabilidade em sentido amplo é a proporção entre a variância genotípica total e a variância fenotípica: $\frac{V_G}{V_F}$, incluindo tanto os efeitos aditivos quanto os de dominância. É muito utilizada quando a seleção é exercida entre clones e linhagens altamente endocruzadas (Hartl & Clark, 2010). A herdabilidade em sentido estrito é mais restritiva, considerando apenas os efeitos aditivos. É calculada como a proporção entre a variação genética aditiva e a variação fenotípica, $\frac{V_A}{V_F}$, sendo utilizada quando a seleção é individual (HARTL; CLARK, 2010).

A herdabilidade em sentido estrito de uma característica geralmente é estimada pelo grau de inclinação da reta da regressão linear da progênie em relação aos genitores (para uma explicação mais detalhada ver RIDLEY, 2006; HARTL; CLARK, 2010). Funciona da seguinte maneira:

- o coeficiente de regressão (β) de uma variável y sobre uma variável x é igual à covariância de y e x dividida pela variância de x :

$$\beta = \frac{\text{COV}_{xy}}{\text{Var}_x} = \frac{\sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sum(x_i - \bar{x})^2}$$

assim,

y é a variável medida na progênie e \bar{y} é a média da variável y ;

x é a mesma variável medida nos parentais e \bar{x} é a média dos parentais;

COV_{xy} é a covariância entre x e y ;

Var_x é a variância de x .

- a covariância de y e x , ou seja, da progênie e dos genitores, é igual à metade da variância aditiva ($\frac{1}{2} V_A$);

- a variância de x (genitores), quando se tem a medida de apenas um dos genitores, é igual a V_F . Quando se tem uma média da característica dos dois genitores, a variância é igual à metade da variação fenotípica ($\frac{1}{2} V_F$);

- assim, quando se tem os valores dos dois genitores, pode-se estimar o grau de inclinação da reta como sendo:

$$\frac{\text{COV}_{xy}}{\text{Var}_x} = \frac{1/2 V_A}{1/2 V_F} = \frac{V_A}{V_F}$$

que, como já vimos mais acima, é a estimativa da herdabilidade em sentido estrito. Isso permite estimar o valor de herdabilidade como o grau de inclinação da reta de uma regressão da progênie em relação aos genitores. Uma vez que se sabe qual é a proporção da variação fenotípica herdável de um determinado caráter, pode-se fazer previsões a respeito do comportamento de caracteres adaptativos ao longo das gerações frente a determinadas mudanças ambientais, ou seja, entender como será, potencialmente, a resposta evolutiva das populações. Cabe ressaltar que, como a estimativa de herdabilidade de uma característica é específica para a população que está sendo mensurada, o seu uso para outras gerações é uma aproximação passível de erro. Entretanto, em estudos envolvendo simulações para a conservação o uso é fundamental para a estimativa de potencial evolutivo, mesmo sendo uma aproximação (GALETI *et al.*, 2013).

Herdabilidade é a

proporção da variância de uma característica quantitativa de uma população em relação à variância fenotípica total. No sentido estrito, é a proporção da variância genética aditiva em relação à variância total.

MATERIAIS DIDÁTICOS

Com base no que foi descrito acima, propomos uma atividade baseada em dados hipotéticos. Um grupo de pesquisadores analisou o efeito do corte seletivo no potencial evolutivo de *Handroanthus impetiginosus* (Bignoniaceae), popularmente conhecido como ipê roxo ou pau d'arco. Para isso eles analisaram o comprimento das sementes, uma característica importante na germinação das sementes e o estabelecimento das plântulas, para verificar como esta característica pode mudar ao longo das gerações em resposta a mudanças ambientais. *Handroanthus impetiginosus* é uma planta auto-incompatível (só tem fecundação cruzada), decídua, heliófita e de ampla distribuição geográfica. As sementes são aladas e dispersas pelo vento. O ipê roxo floresce entre os meses de maio a agosto e os frutos amadurecem entre setembro e outubro, quando ocorre a dispersão de suas sementes. Devido ao seu potencial ornamental quando está na época de floração, *H. impetiginosus* é uma espécie muito utilizada na arborização e paisagismo urbano (LORENZI, 2002). Além disso, a espécie tem importância econômica, devido à utilização da sua madeira em construções externas, em acabamentos internos e na fabricação de artigos esportivos e instrumentos musicais entre outros.

Para entender se uma determinada população de *H. impetiginosus* poderá responder à seleção natural provocada pelas mudanças ambientais induzidas pelo corte seletivo para exploração de madeira, em relação à evolução no comprimento das sementes, os pesquisadores realizaram primeiramente um experimento que permite calcular a herdabilidade da característica comprimento de semente e, a partir da herdabilidade, prever como a população responderá à seleção ao longo das gerações. Para estimar a herdabilidade, é necessário separar os efeitos genéticos dos efeitos ambientais no fenótipo. Para isso, foi feito um experimento no qual:

1. as condições ambientais são homogêneas. Uma vez crescendo sob as mesmas condições, espera-se que as diferenças entre os indivíduos sejam genéticas;
2. os indivíduos precisam ter, entre eles, a relação genética entre eles conhecida. Como membros de uma mesma família compartilham alelos e são mais parecidos entre si do que com membros de outra família. Quanto maior o grau de similaridade entre

membros de uma mesma família, maior é o componente genético da variação fenotípica medida (HOLDEREGGER et al., 2006).

Sabendo disso, para estimar a herdabilidade do comprimento de semente, os pesquisadores coletaram sementes de árvores (matrizes) de *H. impetiginosus* em uma população de manejo para exploração de madeira em uma floresta semideciduosa antes do corte seletivo, e também logo após o corte seletivo; coletaram ainda sementes da geração formada pelo cruzamento de indivíduos pós corte seletivo e calcularam a média do comprimento das sementes de cada árvore. A média do comprimento das sementes de uma mesma matriz é uma observação. Como a planta é auto-incompatível, os pesquisadores determinaram os doadores de pólen (pais) utilizando teste de paternidade (para teste de paternidade veja COLLEVATTI et al., 2013)

Antes do corte seletivo, o comprimento médio das sementes da população total foi igual a 10 mm (incluindo as asas da semente). O corte seletivo levou à retirada de árvores com fuste reto e diâmetro à altura do peito (DAP) acima de 30 cm. Com a retirada das árvores maiores, houve uma mudança nas condições ambientais, aumentando a intensidade de luz no solo da floresta devido ao raleamento do dossel, houve ainda uma simplificação vertical e aumento da velocidade do vento no interior da floresta e próximo ao dossel. dessa forma, houve uma mudança na pressão de seleção nesta população.

Após o corte seletivo, os pesquisadores coletaram sementes de 15 matrizes das árvores que sobraram e calcularam o comprimento médio das sementes por matriz (Média dos genitores no Painel 1). O tamanho médio para a população foi de 14 mm. As sementes coletadas, provenientes do cruzamento entre as árvores que sobraram após o corte seletivo, foram plantadas em uma área experimental, sob condições ambientais homogêneas, onde foram acompanhadas até sua frutificação. Durante a frutificação, foram selecionadas 15 plantas, das quais novamente as sementes foram coletadas e medidas. A nova geração produziu sementes com comprimento médio igual a 12,5 mm.

Dado o comprimento médio das sementes para as 15 matrizes amostradas após o corte



seletivo (*Média dos genitores*) e para 15 plantas provenientes da geração seguinte ao corte seletivo (*Média da progênie*) (Painel 1), é possível entender como esta população responde à seleção ocasionada pelo corte seletivo, em relação à evolução no comprimento de suas sementes. Para isso o aluno deverá:

1. Estimar a herdabilidade usando regressão linear simples;
2. Predizer a resposta à seleção pela população por 10 gerações usando a equação de seleção.

INSTRUÇÕES PARA O PROFESSOR

1. Esta atividade poderá ser realizada individualmente, ou em grupos de alunos de, no máximo, quatro pessoas.
2. Cada grupo deverá receber o problema proposto, uma cópia do procedimento para realizar a atividade, uma cópia de cada painel e das questões para serem discutidas.
3. É recomendável que o professor aplique esta atividade nas turmas que já tiveram contato prévio com os conceitos de genética quantitativa e evolução.

DISTRIBUIÇÃO DO MATERIAL AOS GRUPOS

Os recursos didáticos que deverão ser entregues aos alunos consistem de uma cópia dos procedimentos para realizar a atividade, seis questões a serem discutidas e três painéis, conforme descritos a seguir:

1. **Painel 1:** Tabela com os dados de comprimento médio de sementes para 15 observações amostradas após o corte seletivo (*média dos genitores*) e para 15 observações das sementes produzidas na geração seguinte ao corte seletivo (*média da progênie*);
2. **Painel 2:** Tabela para os alunos preencherem com os valores de comprimento de semente esperados para cada geração (, nas próximas 10 gerações;
3. **Painel 3:** Gráfico para os alunos preencherem mostrando a mudança esperada no comprimento das sementes ao longo das 10 gerações.

PROCEDIMENTOS PARA OS ESTUDANTES

1. Ler com atenção o problema proposto.
2. Analisar o Painel 1 que contém os dados de comprimento médio de sementes para 15 árvores amostradas após o corte seletivo (*média dos genitores*) e para 15 árvores provenientes da geração seguinte ao corte seletivo (*média da progênie*).
3. Utilizando os dados do Painel 1, estimar a herdabilidade da característica comprimento de semente pela regressão da média da progênie e média dos genitores, utilizando o método dos mínimos quadrados:

$$Y_i = \alpha + \beta X_i$$

No qual:

Y_i = variável dependente (comprimento médio da semente da progênie)

X_i = variável independente (comprimento médio da semente dos genitores)

α = constante da regressão, intersecção da reta no eixo X

β = coeficiente de regressão correspondente à inclinação da reta de regressão, que representa a herdabilidade

$$\beta = \frac{\sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sum(x_i - \bar{x})^2}$$

4. Utilizando a herdabilidade estimada por regressão, estimar a resposta evolutiva do comprimento da semente na população de manejo ao longo de 10 gerações, calculando o comprimento esperado da semente:

$$Z_{t+1} = Z_t + h^2(P - Z_t)$$

em que:

Z_t = comprimento da semente na geração t

h^2 = herdabilidade

P = comprimento médio das sementes dos indivíduos que sobraram após o corte seletivo

5. Faça um gráfico mostrando a mudança do comprimento esperado das sementes ao longo das gerações e interprete o gráfico respondendo se a população estudada apresenta potencial evolutivo para comprimento da semente e interpretando a predição de mudança no comprimento da semente.

MATERIAIS DIDÁTICOS

PAINÉIS

Observação	Média dos genitores	Média da progênie
1	11.4	10.5
2	12.1	10.9
3	12.4	11.7
4	12.8	11.9
5	13.1	12.1
6	13.4	12.2
7	13.8	12.4
8	14.2	12.7
9	14.3	12.7
10	14.8	12.9
11	15.2	12.4
12	15.3	13.5
13	15.7	13.5
14	15.9	13.7
15	16.1	13.8
Média	14.0	12.5

Painel 1.

Comprimento médio de semente *Handroanthus impetiginosus* para 15 observações amostradas após o corte seletivo (média dos genitores) e para 15 observações da geração seguinte ao corte seletivo (média da progênie).

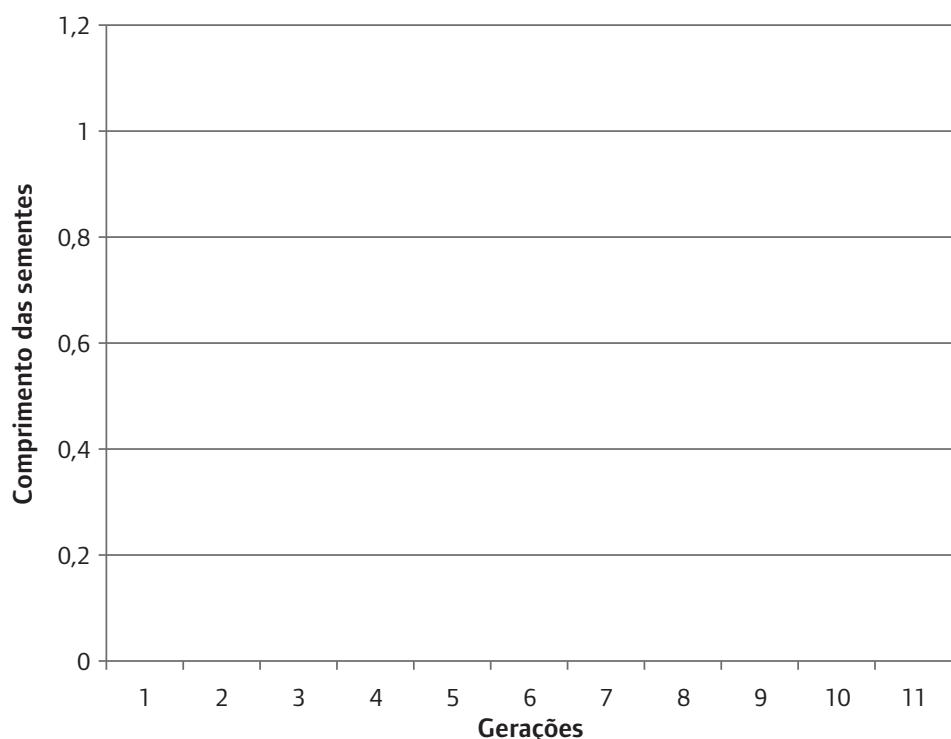
Geração	Comprimento médio esperado das sementes
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

Painel 2.

Comprimento de semente de *Handroanthus impetiginosus* esperado para as próximas 10 gerações.

Painel 3.

Mudança esperada no comprimento de semente de *Handroanthus impetiginosus* ao longo de 10 gerações.

Comprimento esperado das sementes ao longo das gerações**ENTENDENDO A ATIVIDADE**

1. Qual a importância de estudar de que modo uma característica adaptativa responde às mudanças ambientais em uma população para a conservação?
2. Como a heterozigosidade mantém o potencial evolutivo das populações?
3. Qual a diferença entre variação genética neutra e variação adaptativa? Em termos de seleção, qual a consequência dessa diferença?
4. Por que a estimativa da herdabilidade é importante para a genética da conservação?



Fotografia: Roger Culos (Own work) [CC BY-SA 3.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/>)], via Wikimedia Commons

RESPOSTAS

Questões

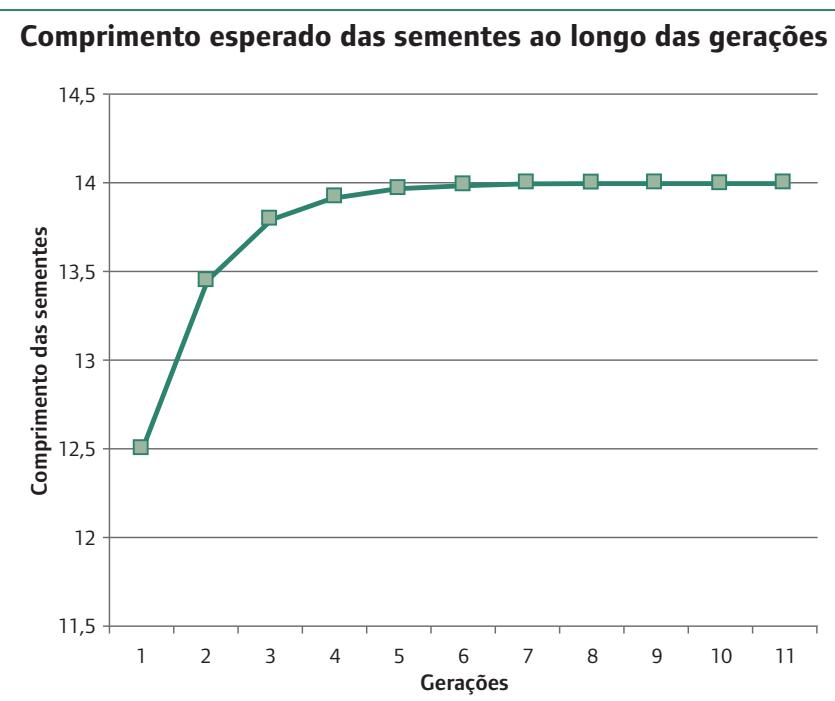
1. Estimar a herdabilidade da característica pela regressão da média da progênie e média dos genitores;
2. Estimar qual o comprimento esperado das sementes nas próximas 10 gerações:

Resposta: $h^2 = 0,63$

Geração	Comprimento médio esperado das sementes
1	13,45
2	13,79
3	13,92
4	13,97
5	13,99
6	14,00
7	14,00
8	14,00
9	14,00
10	14,00

3. Faça um gráfico mostrando a mudança do comprimento esperado das sementes ao longo das gerações e interprete o gráfico respondendo se a população estuda-

da apresenta potencial evolutivo para o comprimento da semente e interpretando a predição de mudança no comprimento da semente.



A população apresenta potencial evolutivo para comprimento de semente pois o comprimento esperado muda ao longo das gerações. Porém, em poucas gerações, a medida de comprimento estabilizou-se num valor

igual à média inicial da população, ou seja, embora a população consiga responder à seleção, esta resposta tem um limite que pode ser resultado da variabilidade genética existente na população.

Entendendo a atividade

- 1.** Qual a importância de estudar o modo pelo qual uma característica adaptativa responde às mudanças ambientais em população?

Resposta: Este estudo permite entender o potencial evolutivo da população em relação à característica. Desta forma, se a característica apresentar mudança ao longo das gerações, a população pode responder às mudanças ambientais. Populações que são capazes de responder às mudanças ambientais têm mais chances de persistirem a longo prazo e não extinguirem. Além disto, é possível entender a direção da mudança. Por exemplo, na atividade atual, as mudanças ambientais na área sobre manejo seletivo levou a um aumento do comprimento da semente porque, sob estas novas condições ambientais, sementes maiores devem ter sido favorecidas em relação a sementes menores.

- 2.** Como a heterozigosidade mantém o potencial evolutivo das populações?

Resposta: A heterozigosidade representa a quantidade de variação genética existente em uma população. Quanto maior o número de diferentes alelos e quanto mais equitativa (mais similar entre os diferentes alelos) for a frequência dos alelos, maior será a heterozigosidade. Assim, quanto maior a heterozigosidade, maior a chance da população possuir variação capaz de responder às mudanças ambientais, ou seja, maior o seu potencial evolutivo.

- 3.** Qual a diferença entre variação genética neutra e variação adaptativa? Em termos de seleção, qual a consequência dessa diferença?

Resposta: A variação genética neutra é uma variação em regiões do genoma que não estão sob a ação da seleção. Essas regiões do genoma evoluem sem a influência de seleção natural. A variação genética adaptativa é a variação em genes que conferem valor adaptativo aos indivíduos e, portanto, evoluem sob seleção. Dessa forma, a variação adaptativa nem sempre segue os mesmos caminhos que a variação neutra. Elas podem diferir dependendo de como a seleção está atuando nas características adaptativas naquela população.

- 4.** Dentro da área da genética da conservação por que a estimativa da herdabilidade é importante?

Resposta: A herdabilidade é uma medida de como uma característica quantitativa é efetivamente transmitida de uma geração para outra. Por isso, ela pode ser utilizada para buscar indícios de como as populações irão responder à seleção de características importantes para a sobrevivência e reprodução em ambientes sujeitos às mudanças ambientais, ou seja, como a habilidade para se adaptar das populações pode ser afetada pelas mudanças climáticas, fragmentação, perda de habitat, introdução de espécies invasoras, entre outras mudanças ambientais.

REFERÊNCIAS

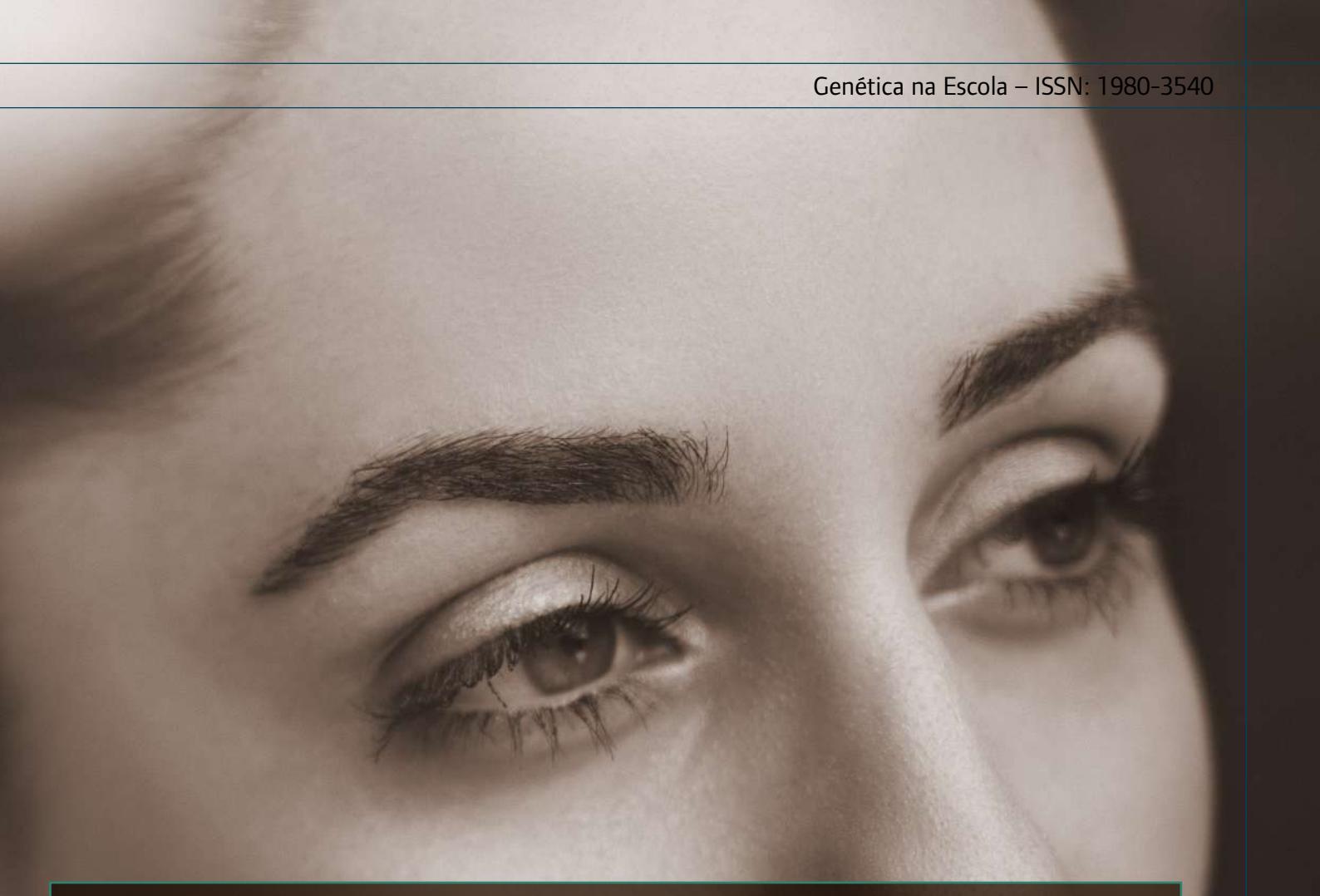
- COLLEVATTI, R. G.; TELLES, M. P. C.; SOARES, T. N. Dispersão do pólen entre pequi-eiros: uma atividade para a genética no ensino superior. *Genética na Escola* v.8, p. 18-27, 2013.
- FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. *Fundamentos de Genética da Conservação*. SBG (Sociedade Brasileira de Genética), Ribeirão Preto, 280p. 2008.
- GALETTI, M.; GUEVARA, R.; CORTES, M. C.; FADINI, R.; VON MATTER, S.; LEITE, A. B.; LABECCA, F.; RIBEIRO, T.; CARVALHO, C. S.; COLLEVATTI, R. G.; PIRES, M. M.; GUIMARAES, P. R.; BRANCALION, P. H.; RIBEIRO, M. C. & JORDANO, P. Functional extinction of birds drives rapid evolutionary changes in seed size. *Science* v. 340, p.1086-1090, 2013.
- HARTL, D. L., CLARK, A. G. *Princípios de genética de populações*. Artmed, Porto Alegre, 660p. 2010.
- HOLDEREGGER, R.; KAMM, U.; GURGELI, F. Adaptive vs. neutral genetic diversity: implications for landscape genetics. *Landscape Ecology* v. 21, p.797-807, 2006.
- LORENZI, H. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil*, vol.1. Instituto Plantarum, Nova Odessa, 384p. 2002.
- RIDLEY, M. *Evolução*. Artmed, Porto Alegre, 752p. 2006.

O princípio elementar de Mendel aplicado a teste de paternidade: uma simulação a partir do triângulo amoroso em Dom Casmurro

Vagner Damião da Silva Ramos, Rafaela Magalhães Aires,
Andréa Carla de Souza Góes

Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Departamento de Ensino de
Ciências e Biologia, Instituto de Biologia, Rio de Janeiro, RJ

Autor para correspondência: acgoes@uerj.br



A atividade demonstra a tecnologia associada ao teste de paternidade, levando o estudante a visualizar o princípio mais elementar postulado por Mendel, a transmissão de caracteres, aos pares, da geração parental aos filhos. Estes caracteres, alelos do tipo microssatélite, são o alvo de análise da metodologia relacionada ao teste de paternidade. São utilizados, como exemplo de indivíduos testados, as personagens fictícias de um clássico da literatura brasileira, em *Dom Casmurro*, obra de Machado de Assis. Além de se apresentar como potencial instrumento para a compreensão da primeira lei de Mendel e divulgador de técnicas básicas de biologia molecular no contexto da vinculação genética de indivíduos, o material didático pode ser um estudo interdisciplinar, com a interação entre professores de biologia e português/literatura, no ensino médio. O material didático é constituído de quatro etapas que exemplificam, através de reagentes e materiais artesanais, o processo laboratorial de vinculação genética de indivíduos: extração de DNA a partir de frutas, manipulação de um protótipo de termociclador, eletroforese em gel de maisena para separar corantes e manipulação de peças que simulam as regiões microssatélite do DNA dos três indivíduos analisados (Capitu, Ezequiel e Bentinho) para determinação de casos de inclusão ou exclusão de paternidade.

A OBRA *DOM CASMURRO* E O CONTEXTO DE UM TESTE DE PATERNIDADE

Dom Casmurro, escrita por Machado de Assis e publicada em 1900, é considerada uma obra fundamental da literatura brasileira. É um romance em que é narrada a vida de Bentinho, o protagonista, e o seu relacionamento com a amada Capitu, desde a infância, no Rio de Janeiro do Segundo Império. A ambiguidade de Capitu e o ciúme de Bentinho compõem o enredo central da trama e retratam costumes morais da época. Quando Ezequiel nasce, Bento tortura-se com suas dúvidas em relação à moral de Capitu e suspeita que o menino seja filho do seu melhor amigo, Escobar. O caráter ambíguo de Capitu, descrita pelo autor como a moça dos “olhos de ressaca”, despertou grande polêmica e variadas interpretações da obra, principalmente em relação ao enigma da paternidade: seria Ezequiel filho de Bento ou de Escobar? Ao associar o romance ao teste de paternidade, tem-se também a possibilidade de se fazer uma leitura desse clássico da literatura brasileira.

TESTE DE PATERNIDADE E GENÉTICA MENDELIANA

Ao realizar experimentos para estudar o mecanismo de transmissão de caracteres entre gerações, através das ervilhas, Mendel postulou algumas teorias. Entre elas, a de que cada organismo possui um par de fatores responsável por determinada característica. Esses fatores são provenientes dos pais. Hoje, sabemos que esses fatores, denominados alelos, estão situados nos cromossomos (DNA). Se os dois alelos do indivíduo para um determinado lócus (região do DNA) são iguais, dizemos que há homozigose. Se os alelos são diferentes, dizemos que há heterozigose para tal lócus cromossomal.

A tecnologia de identificação genética de indivíduos foi desenvolvida em 1985 pelo britânico Alec Jeffreys. Logo em seguida, a análise do DNA foi, pela primeira vez realizada com fins forenses, na Inglaterra, para elucidar um problema de imigração. Pouco tempo depois, uma evidência genética foi aceita por tribunal britânico para comprovar a partici-

pação de um indivíduo em casos de abuso sexual cometidos entre 1983 e 1986. A metodologia foi aprimorada e, a partir da década de 90, tornou-se uma ferramenta imprescindível para estudos de provas biológicas produzidas em laboratórios e aceitas perante tribunais para auxiliarem em julgamentos. Assim, vestígios biológicos provenientes de crimes, como os raspados coletados de armas ou de delitos sexuais, podem ser analisados geneticamente.

Através do material didático desenvolvido, demonstramos o princípio mais básico da lei de Mendel, na resolução de um caso de paternidade.

Atualmente, para relacionar pessoas através do DNA, são analisadas regiões do genoma altamente variáveis ou polimórficas, denominadas microssatélites, as quais são constituídas de sequências curtas repetitivas e consecutivas (STR - *short tandem repeats*). Os microssatélites ou STR estão presentes em todos os cromossomos humanos. A Figura 1 mostra o exemplo da sequência do STR denominado D3S1358 (repetição TCTA), localizado no cromossomo 3. A figura representa uma porção do cromossomo e seus respectivos alelos (na figura representados como A1 e A2). Como se sabe, desde que estabelecido por Mendel, em 1865, todos os nossos cromossomos existem nas células aos pares, sendo um cromossomo proveniente da mãe e o outro do pai. No entanto, regiões microssatélites do DNA (ou STR) não são codificantes, ou seja, não expressam proteínas, como aquelas regiões analisadas por Mendel, nas ervilhas. O indivíduo caracterizado na Figura 1 apresenta o microssatélite TCTA com quatro repetições no alelo A1 e com seis repetições no alelo A2. Diz-se que este indivíduo possui os alelos 4 e 6 para o microssatélite D3S1358 do cromossomo 3, ou seja, ele é tipado como 4/6. Como os alelos são diferentes (4 e 6 repetições), diz-se que o indivíduo é heterozigoto neste lócus cromossomal.

Para realizar um teste de paternidade para um indivíduo, é necessário analisar as mesmas regiões STR presentes nos DNAs da mãe e do suposto pai. O teste consiste em determinar os números de repetições de determinados STR nos três indivíduos e rela-

Alelo A1	...GTACCGTAAC	TCTA	TCTA	TCTA	TCTA	TCAGTTGT...
Alelo A2	...GTACCGTAAC	TCTA	TCTA	TCTA	TCTA	TCTA TCAGTTGT...

Figura 1.

Exemplo de sequência repetitiva do tipo microssatélite ou STR.

cioná-los. Dessa forma, determina-se o alelo proveniente da mãe e o alelo proveniente do pai. Assim, para realizar um teste de paternidade para o indivíduo exemplificado acima, o qual será chamado de criança, analisa-se o mesmo STR D3S1358 do cromossomo 3 da mãe e do suposto pai, conforme ilustrado na Figura 2.

No exemplo, observa-se que a mãe possui dois alelos de 4 repetições (estado homozigoto – dois alelos iguais) e o suposto pai possui os alelos 5 e 6 (5 e 6 repetições, respectivamente - estado heterozigoto). Pode-se verificar que a criança (tipada com 4/6 – heterozigota), recebeu o alelo 4 da mãe. O alelo 6 é considerado, portanto, o alelo paterno. Como o suposto pai analisado possui este alelo (6), diz-se que houve inclusão de paternidade para o microssatélite D3S1358 do cromossomo 3.

A metodologia do teste de paternidade é constituída das seguintes etapas: 1- extração de DNA dos três indivíduos envolvidos no exame (suposto pai, criança e mãe); 2- amplificação, através da técnica PCR, das regiões microssatélites dos DNAs extraídos dos três indivíduos; 3- eletroforese para tipagem dos alelos amplificados (através da separação por tamanho das moléculas e verificação do número de repetições dos alelos microssatélite).

Normalmente, são analisadas pelo menos 10 regiões STR ou microssatélites como critério para conclusão do teste de paternidade. No caso de exclusão, verifica-se se não há relação entre os alelos paternos da criança com os do suposto pai em pelo menos três regiões analisadas. No caso de inclusão, verifica-se a relação entre os alelos paternos da criança com os do suposto pai em todas as regiões analisadas.

Mãe						
Alelo A1	...GTACCGTAAC	TCTA	TCTA	TCTA	TCTA	TCAGTTGT...
Alelo A2	...GTACCGTAAC	TCTA	TCTA	TCTA	TCTA	TCAGTTGT...
Criança						
Alelo A1	...GTACCGTAAC	TCTA	TCTA	TCTA	TCTA	TCAGTTGT...
Alelo A2	...GTACCGTAAC	TCTA	TCTA	TCTA	TCTA	TCTA TCAGTTGT...
Suposto pai						
Alelo A1	...GTACCGTAAC	TCTA	TCTA	TCTA	TCTA	TCTA TCAGTTGT...
Alelo A2	...GTACCGTAAC	TCTA	TCTA	TCTA	TCTA	TCTA TCAGTTGT...

Figura 2.

Exemplo de análise do STR D3S1358 em um suposto teste de paternidade (inclusão de paternidade).

MATERIAL DIDÁTICO: TESTE DE PATERNIDADE DO TRIÂNGULO AMOROSO EM *DOM CASMURRO*

O primeiro passo para se realizar um teste de paternidade é a extração de DNA a partir do sangue ou outra amostra biológica da mãe, da criança e do suposto pai. Neste estudo, as amostras biológicas dos indivíduos serão substituídas por frutas. Em seguida, o DNA das regiões microssatélite dos três indivíduos deve ser tipado, isto é, verificar-se o número de repetições de cada um dos microssatélites destes indivíduos para determinar se eles se relacionam geneticamente. Com o objetivo de isolar e multiplicar estas sequências-alvo, utiliza-se a técnica PCR. O PCR ou reação em cadeia da polimerase (*polymerase chain reaction*) é um método de amplificação (de criação de múltiplas cópias) do DNA. É uma técnica bastante eficiente, tornada popular a partir da década de 90, que substituiu o método antigo de clonagem em bactérias, como a *Escherichia coli*, para a obtenção de grandes quantidades de um determinado trecho de DNA. A reação nada mais é do que a simulação da síntese ou replicação de DNA normalmente realizada nas células.

Através deste material didático, os alunos manipulam um protótipo de termociclador. O professor deverá explicar as reações que ocorrem durante a alternância de temperatura. Em seguida, o DNA das regiões microssatélite ou STR, amplificadas em reações de PCR, são separadas por tamanho através de corrida eletroforética para a identificação dos alelos. Com este material didático, os alunos podem realizar a corrida eletroforética, em uma cuba artesanal, com gel de maisena. Corantes são utilizados como análogos às amostras correspondentes aos indivíduos analisados (Capitu, Ezequiel e Bentinho). Por último, os alunos manipulam peças-bloco "STR" para realizar diferentes combinações entre os indivíduos para os casos de inclusão ou exclusão de paternidade.

Desta forma, o material didático comprehende as seguintes propostas de atividades:

- ♦ Extração de DNA a partir de frutas;

- ♦ Manipulação de um protótipo de termociclador;
- ♦ Eletroforese em gel de maisena para separar corantes (que representam os indivíduos mãe - Capitu, criança - Ezequiel e suposto pai - Bentinho) cujas cores se relacionarão com os alelos das regiões de DNA analisadas em teste de paternidade (microssatélites);
- ♦ Manipulação de peças que representam os microssatélites nos três indivíduos analisados (Capitu, Ezequiel e Bentinho) para visualizar os casos de inclusão ou exclusão de paternidade.

Para cada uma das atividades, demonstramos o objetivo dentro do contexto de teste de paternidade, assim como o conteúdo de genética subjacente às técnicas de biologia molecular.

1- Extração de DNA de frutas

Nesta prática, demonstramos a extração de DNA a partir de frutas. O princípio é o mesmo e os reagentes são similares aos utilizados na extração de DNA a partir de sangue de indivíduos que são submetidos a um teste de paternidade.

Materiais

- ♦ Uma banana pequena
- ♦ Água, de preferência filtrada (100 ml)
- ♦ Copo de medidas (500 ml)
- ♦ Álcool etílico (100 ml)
- ♦ Copo de plástico
- ♦ Copo de vidro
- ♦ Socador
- ♦ Peneira
- ♦ Sal de cozinha (10 g)
- ♦ Detergente de cozinha neutro (20 ml)
- ♦ Espátula de madeira

Procedimento

- ♦ Macerar a banana, no copo de plástico com o socador, até formar uma pasta;
- ♦ No copo de medidas, adicionar a água, o sal e o detergente. Misturar com a espátula de madeira até homogeneizar a solução;





- ♦ Acrescentar a solução à pasta de banana no copo de plástico;
- ♦ Misturar com a espátula de madeira até homogeneizar;
- ♦ Colocar a peneira sobre o copo de vidro;
- ♦ Coar toda a mistura, mexendo com a espátula de madeira;
- ♦ Retirar a peneira e adicionar o álcool lentamente pela parede do copo.
- ♦ Tendo sido feitos tais procedimentos, ocorrerá o agrupamento das moléculas de DNA (sair da solução), permitindo a visualização como filamentos.

Para esta etapa, espera-se que os alunos compreendam que as características químicas das células e das moléculas de DNA são levadas em consideração ao se escolher os reagentes para a extração. O detergente é responsável por “dissolver” a membrana da célula, composta por lipídeos. O sal atua na neutralização da carga negativa do DNA (o sódio do sal - NaCl - interage com os grupos fosfato do DNA), o que consequentemente diminui a hidrofilia do DNA. A adição de álcool favorece ainda mais a “insolubilidade” do DNA no meio aquoso, provocando a precipitação do mesmo (o DNA sai de solução na presença de sal e álcool).

Quando estes reagentes são misturados às frutas amassadas, a membrana celular rom-

pe-se e todo o conteúdo da célula é liberado. Ao se adicionar o sal e o álcool à mistura, ocorre a precipitação das moléculas de DNA, formando um “aglomerado” esbranquiçado.

No laboratório, utilizam-se reagentes análogos aos citados acima para o rompimento da membrana e liberação do conteúdo celular. Além disso, em fases adicionais, é realizada a purificação do DNA. Por exemplo, ao se adicionar fenol, as proteínas serão desnaturadas e precipitadas. Com esta etapa, a solução de DNA é liberada das proteínas.

2-Amplificação do DNA: protótipo de termociclagr

Utiliza-se o protótipo de termociclagr (Figura 3) para demonstrar como funciona o aparelho e quais as funções exercidas pelo mesmo para que ocorra a amplificação do DNA (neste caso, ocorre a amplificação das regiões STR) através da técnica de reação em cadeia da polimerase ou PCR. O protótipo é construído em uma caixa de ponteiras ou caixa plástica de aproximadamente 12 x 8,0 x 4,0 cm, sobre a qual é acoplada uma tampa plástica esculpida para o encaixe de 12 tubos do tipo Eppendorf, botão e três micro-lâmpadas de luz LED nas cores vermelho, amarelo e verde. O sistema está ligado a um porta-pilhas contendo duas pilhas pequenas no interior da caixa.



Figura 3.

Protótipo do aparelho termociclagr. A luz vermelha acesa indicaria a fase de desnaturação, a luz verde acesa indicaria a fase de anelamento, e a luz amarela acesa indicaria a fase de extensão.

MATERIAIS DIDÁTICOS

Para esta etapa, o professor deve explicar, anteriormente, como ocorre a síntese de DNA, naturalmente, nas células. O professor deve, principalmente, mostrar a dinâmica de ação da enzima DNA polimerase ao adicionar os nucleotídeos homólogos (A-T; C-G), à nova fita de DNA, tendo como base a fita de DNA molde.

A reação de PCR é realizada em um termociclador, aparelho que alterna temperatura nas três fases sequenciais da técnica: desnaturação do DNA, anelamento dos iniciadores de síntese ao DNA e extensão da síntese de DNA. Durante a etapa de desnaturação, a 90 °C, a fita dupla do DNA molde é separada. Devido à alta temperatura, as pontes de hidrogênio que mantêm pareadas as bases nitrogenadas, são rompidas.

Na fase seguinte, em que o termociclador é resfriado, ocorre o anelamento ou emparelhamento entre o DNA iniciador (primer) e a região do DNA molde a ser sintetizada e replicada. Esta etapa é realizada com temperaturas entre 60 °C e 65 °C. O DNA iniciador ou primer é constituído de uma fita simples de DNA de aproximadamente 15 nucleotídeos. Os iniciadores funcionam como uma espécie de “marcador”, sinalizando a região do DNA a ser amplificada. Além do mais, o DNA iniciador é o “suporte” para a enzima DNA polimerase iniciar a síntese de DNA.

Por fim, o termociclador é aquecido novamente para alcançar a temperatura de 72 °C. Esta é a temperatura ótima para a ação da enzima DNA polimerase na etapa de extensão. Nesta fase, a enzima fará a síntese de DNA, utilizando nucleotídeos, através da extensão a partir da fita iniciadora ou primer. É importante ressaltar que, como qualquer proteína, a enzima DNA polimerase não poderia suportar temperaturas tão elevadas sem ser inativada definitivamente (ou desnaturada). Por isso, a reação de PCR é realizada com uma enzima especial, a *Taq* polimerase, a qual é purificada de um organismo adaptado à temperaturas extremas, o *Termus aquaticus*.

As três fases do PCR são realizadas sequencialmente, ou seja, após a extensão, novo ciclo de desnaturação, anelamento e exten-

são é iniciado. Normalmente, são realizados entre 30 a 40 ciclos de reação de PCR para se obter uma quantidade razoável de DNA amplificado. A Figura 4 esquematiza as fases da reação de PCR para amplificação do DNA.

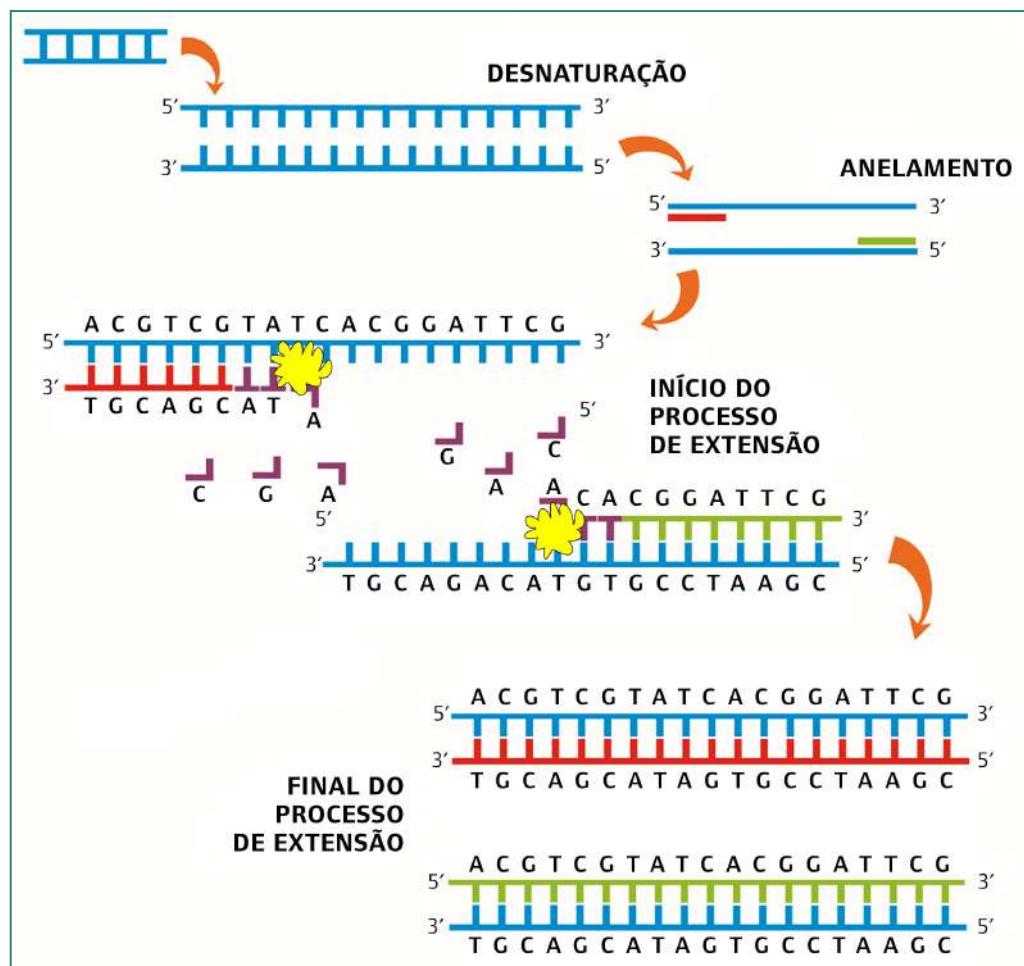
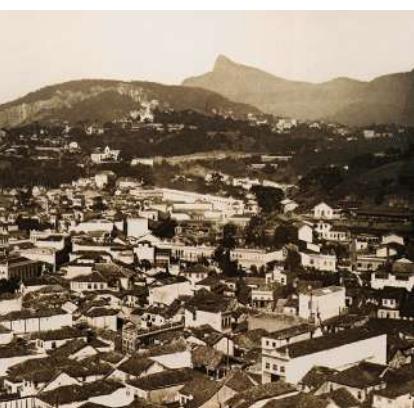
Ressalta-se que, a partir dos iniciadores, são sintetizadas e, consequentemente, amplificadas, as regiões STR do DNA. Em um teste de paternidade, normalmente são amplificadas 16 regiões (ou lócus) STR simultaneamente, ou seja, numa única reação de PCR, são adicionados 16 iniciadores (ou primers) que promoverão o início da síntese de 16 lócus STR para cada indivíduo analisado.

3 - Eletroforese

Nesta prática, simulamos a separação do DNA (alelos de regiões STR amplificados anteriormente, na técnica PCR) por tamanho, em uma eletroforese, utilizando corantes (do tipo anilina comestível, por exemplo, da marca Mago ou Arcolor). Os indivíduos envolvidos no teste de paternidade constituem as seguintes amostras: mãe (Capitu), representada pela cor vermelha; suposto pai (Bentinho) representado pela cor azul; criança (Ezequiel), representada pelas cores azul e vermelha. Após a eletroforese, serão observadas as bandas no gel, as quais corresponderiam aos DNAs (regiões STR) amplificados pela técnica PCR.

O professor pode explorar, a partir desta etapa do teste de paternidade, os aspectos físico-químicos da eletroforese. A eletroforese é uma técnica útil para separação de moléculas por tamanho e/ou carga. As amostras são aplicadas em uma das extremidades de um gel. As moléculas movem-se em direção ao pólo oposto, devido à diferença de potencial criada pela corrente elétrica, em solução tampionante (soluções que atenuam a variação dos valores de pH, mantendo-os aproximadamente constantes). As moléculas de DNA apresentam carga geral negativa (devido ao grupamento fosfato) e, portanto, são atraídas para o pólo positivo da cuba eletroforética. À medida que as moléculas se deslocam no gel, são separadas de acordo com o tamanho. Assim, as menores moléculas, tendo mais facilidade em atravessar a trama do gel, correm mais rápido do que as moléculas maiores.



**Figura 4.**

A reação de PCR é realizada através de ciclos de temperatura que se alternam nas fases de desnaturação, anelamento e extensão. Os primers senso (anelado à fita molde 5' → 3') e antisenso (anelado à fita molde 3' → 5') estão representados em vermelho e verde, respectivamente. As fitas em azul representam o DNA molde. A bola amarela representa a enzima DNA polimerase e os nucleotídeos livres estão representados em roxo. (Ilustração Gina Arêdes).

A - Preparo do molde

Materiais

- ♦ Molde para gel (caixa de ponteiras ou caixa plástica de aproximadamente 12 x 8,0 x 4,0 cm) acoplado à cuba de eletroforese (caixa de ponteiras ou caixa plástica de aproximadamente 12 x 8,0 x 4,0 cm)

adaptada com os plugs de eletrodos e corda de violão)

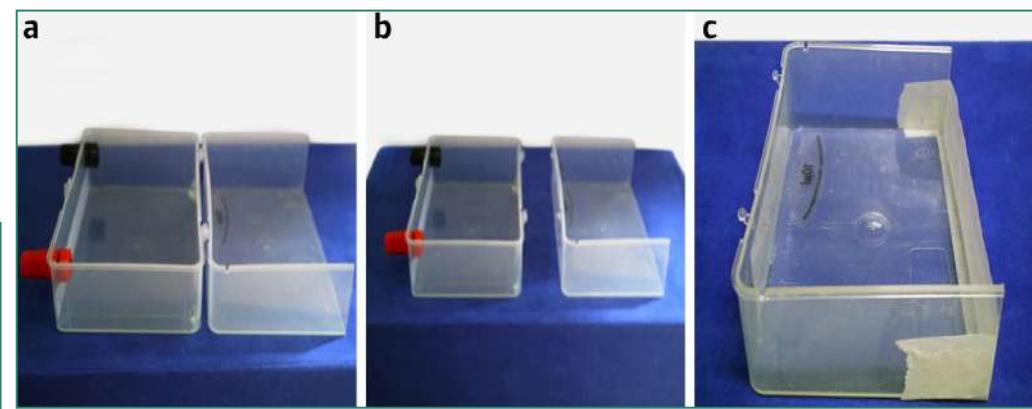
- ♦ Fita crepe

Procedimento

- ♦ Desacoplar o molde da cuba de eletroforese;
- ♦ Vedar a parte traseira com a fita crepe, conforme mostra a Figura 5.

Figura 5.

Molde para fabricação do gel. a) Molde acoplado à cuba eletroforética; b) Molde desacoplado; c) Molde vedado com a fita crepe.



MATERIAIS DIDÁTICOS

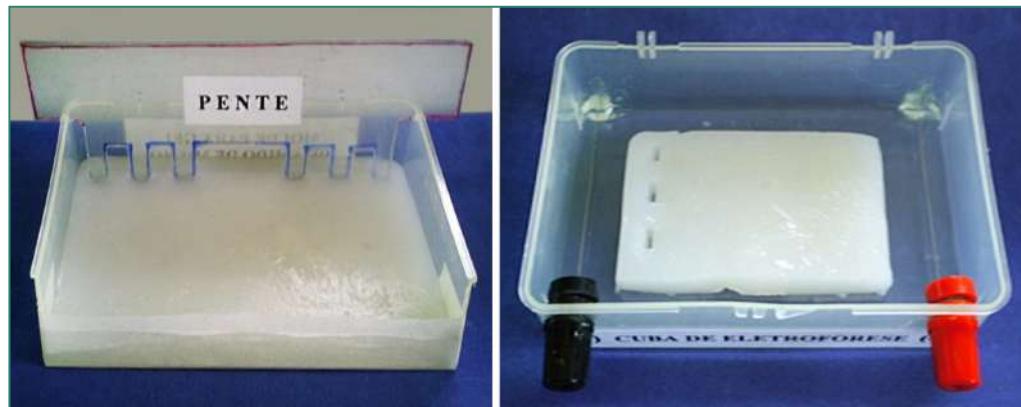
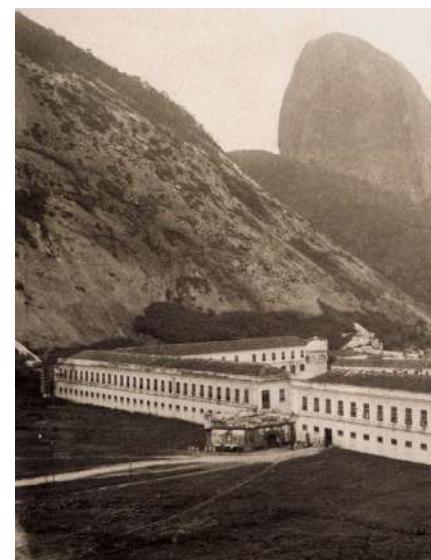
B - Preparo do gel de maisena a 10%

Materiais

- ◆ Maisena (10 gramas)
- ◆ Tampão de eletroforese (100 ml - composta de uma mistura de água boricada a 0,2% e bicarbonato de sódio a 1%)
- ◆ Copo de vidro
- ◆ Espátula de madeira
- ◆ Molde vedado com fita crepe
- ◆ Pente (régua de plástico cortada em formato de dentes)
- ◆ Microondas

Procedimento

- ◆ No copo de vidro, misturar a maisena e a solução tampão de eletroforese com a espátula de madeira;
- ◆ Levar o copo de vidro ao microondas para aquecer a solução;
- ◆ Retirar o copo do microondas antes que a solução entorne;
- ◆ Mexer o gel com a espátula, rapidamente, até homogeneizar;
- ◆ Repetir as etapas 2, 3 e 4;
- ◆ Despejar rapidamente o gel no molde e encaixar o pente para a formação dos poços de aplicação de amostras (Figura 6).



C - Corrida eletroforética

Materiais

- ◆ Molde contendo o gel de maisena
- ◆ Tampão de eletroforese (100 ml)
- ◆ Cuba de eletroforese
- ◆ Amostras (corantes misturados com glicerina em proporção de 50%-50%) representando o suposto pai, a mãe e a criança (Bentinho, Capitu e Ezequiel, respectivamente)
- ◆ Pipeta (seringa de insulina, adaptada)
- ◆ Tomada de ligação elétrica
- ◆ Copo de vidro

Procedimento

- ◆ Retirar o pente do gel e colocá-lo no centro da cuba de eletroforese (Figura 6),

com os poços voltados para o lado do polo negativo (eletrodo preto). Sobre o gel de maisena, adicionar 100 ml da solução tampão de eletroforese;

- ◆ Com a pipeta, encher os poços até a metade com as amostras: suposto pai (Bentinho/cor azul) no lado direito; criança (Ezequiel/cores azul e vermelha) no centro e mãe (Capitu/cor vermelha) no lado esquerdo;
- ◆ Os plugs devem ser conectados às suas cores correspondentes (preto - polo negativo e vermelho - polo positivo). Ligar a cuba de eletroforese (110V) utilizando a tomada de ligação elétrica;
- ◆ Após a separação dos corantes por 5 a 10 minutos, desligar a cuba da tomada e descartar a solução tampão;

Figura 6.

Gel de maisena contendo o pente para a formação dos poços de aplicação de amostras (esquerda) e gel de maisena alocado no centro da cuba de eletroforese (direita), após a retirada do pente, com os poços voltados para o lado do polo negativo (eletrodo preto).



CUIDADO: não colocar a mão na cuba durante a corrida eletroforética (passagem de corrente elétrica);

- ♦ Retirar o gel e apoiá-lo em uma superfície seca com a sua face inferior para cima;
- ♦ Em seguida, observar as bandas no gel, as quais corresponderiam aos DNAs amplificados (regiões STR ou microssatélite) pela técnica PCR.

Através desta prática, mostramos como ocorre a separação, por tamanho, dos alelos

amplificados num teste de paternidade (alelos do tipo microssatélite ou STR). Desta forma, representamos aqui a corrida eletroforética dos alelos amplificados a partir de uma região ou lócus STR, para três indivíduos. No laboratório, como é realizada a amplificação de diferentes lócus STR simultaneamente, adaptações são realizadas para que os vários alelos sejam visualizados no gel sem sobreposição.

Na Figura 7, visualização do aspecto do gel ao final da corrida eletroforética.

Bentinho Ezequiel Capitu

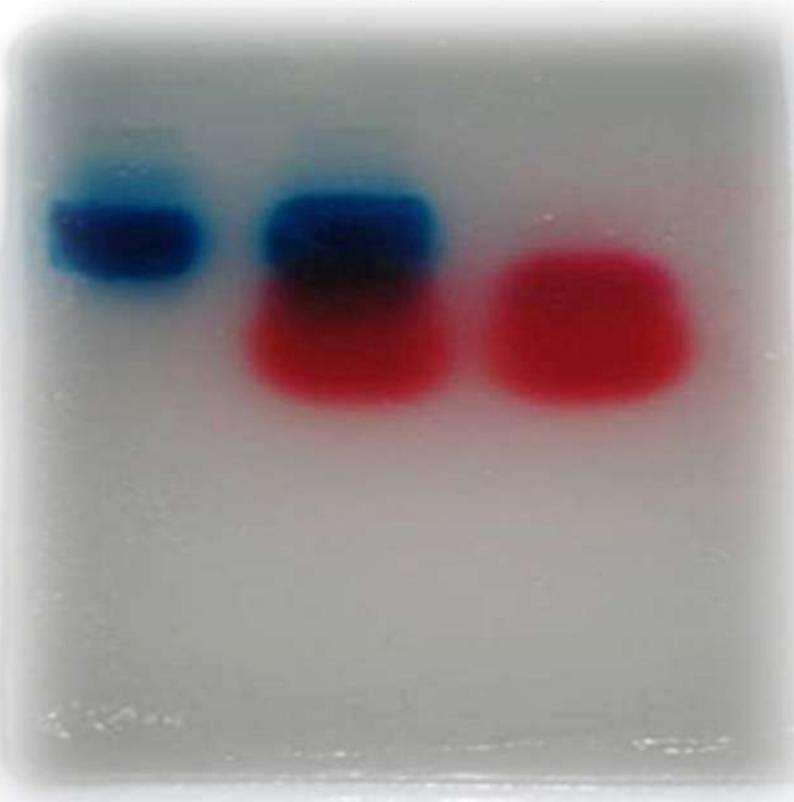


Figura 7.

Gel de miasena após a corrida eletroforética.

Fazendo uma analogia com a tipagem de uma região microssatélite no DNA, podemos dizer que: a mãe (Capitu) é homozigota (2 alelos iguais: vermelho); o suposto pai (Bentinho) também é homozigoto (2 alelos iguais: azul); a criança (Ezequiel) é heterozigota (2 alelos diferentes: azul e vermelho). Ressalta-se que tanto Capitu como Bentinho têm dois alelos do mesmo tamanho, por isso, só se observa uma banda no gel (duas bandas sobrepostas) para estas amo-

tras. Pode-se exemplificar o alelo vermelho como sendo de 5 repetições de um dado STR e o alelo azul como sendo de 6 repetições deste mesmo STR. O alelo 5, sendo menor, correu mais rápido do que o alelo 6 (considerando-se que as amostras foram aplicadas na parte superior do gel). Ezequiel teria recebido o alelo 5 de Capitu e o alelo 6 de Bentinho, caracterizando, assim, a inclusão de paternidade para esta região analisada do DNA.

Para que Bentinho seja considerado o pai biológico de Ezequiel, é importante lembrar que várias outras regiões STR do DNA (pelo menos 10) devem ainda ser analisadas.

Ainda, em uma variação da prática, a amostra correspondente ao melhor amigo de Bentinho, o personagem Escobar, também pode ser analisada. Assim, a amostra seria constituída de uma mistura de corantes diferentes dos utilizados para os outros indivíduos para caracterizar a exclusão de paternidade.

Dessa forma, ao “realizar” o teste de paternidade em indivíduos fictícios, mostramos o princípio mais fundamental da lei de Mendel, que se aplica a todos os organismos de reprodução sexuada. A partir das experiências e dos estudos relativos a elas espera-se que os alunos não só compreendam o conceito de alelo, como tracem um paralelo entre os alelos-alvo de análise num teste de paternidade (regiões não codificantes do DNA) e os alelos das ervilhas (regiões codificantes do DNA) estudados por Mendel.

Cada descendente possui um fator vindo de um progenitor, e um segundo vindo do outro progenitor. Mendel mostrou, ao trabalhar com ervilhas, que os fatores (aqui denominados alelos) relativos a determina-

dos caracteres, da geração parental, não se misturam para dar origem a formas intermediárias (conforme pensava Darwin) nos descendentes. Ou seja, os alelos são transmitidos, intactos, para a geração seguinte a partir dos progenitores. Os alelos de 5 e 6 repetições do STR (ou vermelho e azul) de Capitu e Bentinho são os mesmos alelos presentes na amostra de Ezequiel. Da mesma forma, os alelos para as cores verde e amarela das ervilhas não se misturam nem se perdem, eles são passados integralmente, a partir dos progenitores, para a geração seguinte. O alelo que caracteriza a cor verde da ervilha não foi expresso na primeira geração, embora estivesse presente. A prova de que esse alelo estava presente foi obtida ao se realizar o auto cruzamento da geração F1. Na geração F2, o alelo que caracteriza a cor verde não só estava presente, como expressou o fenótipo verde. Por isso, Mendel denominou o alelo que caracterizava a cor amarela de dominante e o alelo que caracterizava a cor verde, de recessivo. Como os alelos STR não estão associados à expressão gênica, não tratamos aqui do processo de dominância ou recessividade verificado por Mendel nos caracteres analisados nas ervilhas.



4 - Tipagem de DNA

Com a manipulação dos “blocos de microssatélites”, é possível compreender a dinâmica da determinação de vínculo genético entre indivíduos. Os alunos poderão utilizar os blocos para, por exemplo, representar a análise de indivíduos homo-

zigotos ou heterozigotos em uma inclusão ou exclusão de paternidade. A Figura 8 apresenta uma situação de inclusão de paternidade, tendo a criança recebido o alelo de duas repetições do microssatélite TCTA da mãe e o alelo de três repetições, do suposto pai.

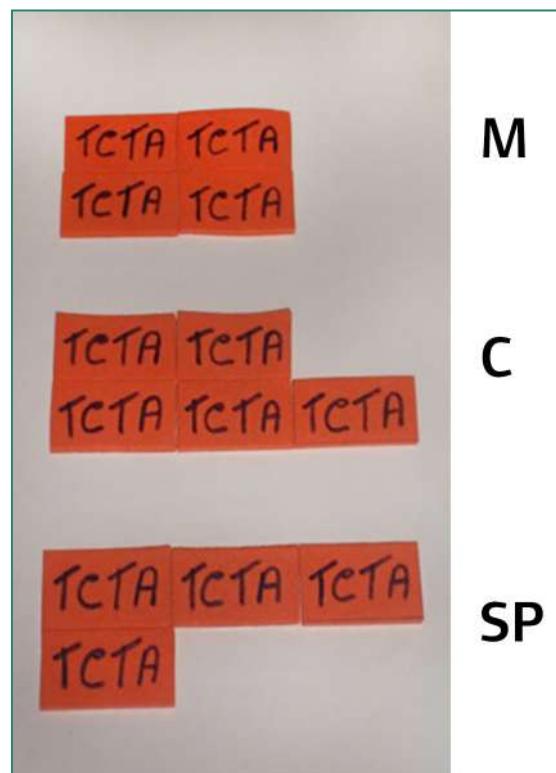


Figura 8.

Representação da utilização dos blocos de microssatélites em uma situação de inclusão de paternidade. M: mãe; C: criança; SP: suposto pai.

PARA SABER MAIS

MARANO, L. A.; SIMÕES, A. L.; OLIVEIRA, S. F.; MENDES-JUNIOR, C. T. Polimorfismos genéticos e identificação humana: o DNA como prova forense. *Genética na Escola* v. 05, n. 01, p. 53-56, 2010.

OLIVEIRA, F. B.; SILVEIRA, R. M. V. O teste de DNA na sala de aula: é possível ensinar biologia a partir de temas atuais? *Genética na Escola* v. 05, n.01, p.01-04, 2010.

SOUZA, R. F. Uma simulação de teste de paternidade: quem é o pai do bezerro? *Genética na Escola* v. 06, n. 01, p. 04-08, 2011.

CAMPOS, C. K. P.; SIQUEIRA, M. N.; BORGES, J. P.; RODRIGUES, L. A.; OLIVEIRA, J. S.; ROSA, M. A.; NEVES, A. F. Exames de paternidade pelo DNA: uma metodologia para ensino da genética molecular. *Genética na Escola* v. 05, n. 02, p. 07-13, 2010.

BONETTI, A. M.; VIEIRA, C. U.; SIQUIEROLI, A. C. S. Amplificação de DNA (simulação de polymerase chain reaction – PCR) Atividade para sala de aula. *Genética na Escola* v. 01, n. 02, p. 63-65, 2006.

BIOEDIT: um software para alinhamento de genes e construção de árvoreas evolutivas

Uma das técnicas mais utilizadas para o estudo de sequências gênicas é o alinhamento sequencial. Esta técnica visa a comparação de sequências biológicas (gênicas ou proteicas) na tentativa de fazer um “pareamento” entre seus caracteres (bases nitrogenadas ou aminoácidos). A utilização desta ferramenta é abrangente e pode ser aplicada à a identificação de *motifs* conservados, e de suas estruturas secundárias e terciárias; construção de árvores filogenéticas, cladogramas e dendogramas; busca em bancos de dados (*data-mining*) e busca de sequências homólogas. O alinhamento é amplamente abordado em aulas de genética e bioinformática de diversos cursos, constando na ementa de várias disciplinas. Ao ensinar este conteúdo, é imprescindível que o professor, após uma abordagem teórica, utilize uma ferramenta de alinhamento para uma prática computacional.

Rafael Trindade Maia

Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, Sumé, PB

Autor para correspondência: rafael.rafatrin@gmail.com

Existem diversos algoritmos para a execução de alinhamentos e muitos estão disponíveis por meio de servidores na internet e softwares gratuitos para uso acadêmico. O Bioedit é um desses softwares distribuído gratuitamente no sítio <http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/page2.html>. Foi apontado como o programa de alinhamento mais utilizado

no mundo inteiro, possui uma interface interativa e de fácil uso, aceitando diversos formatos de arquivos de entrada (Figura 1). O programa possui diferentes versões para rodar em sistema Windows, podendo também ser utilizado no sistema linux através de um emulador como, por exemplo, o emulador Wine (<https://www.winehq.org/>).

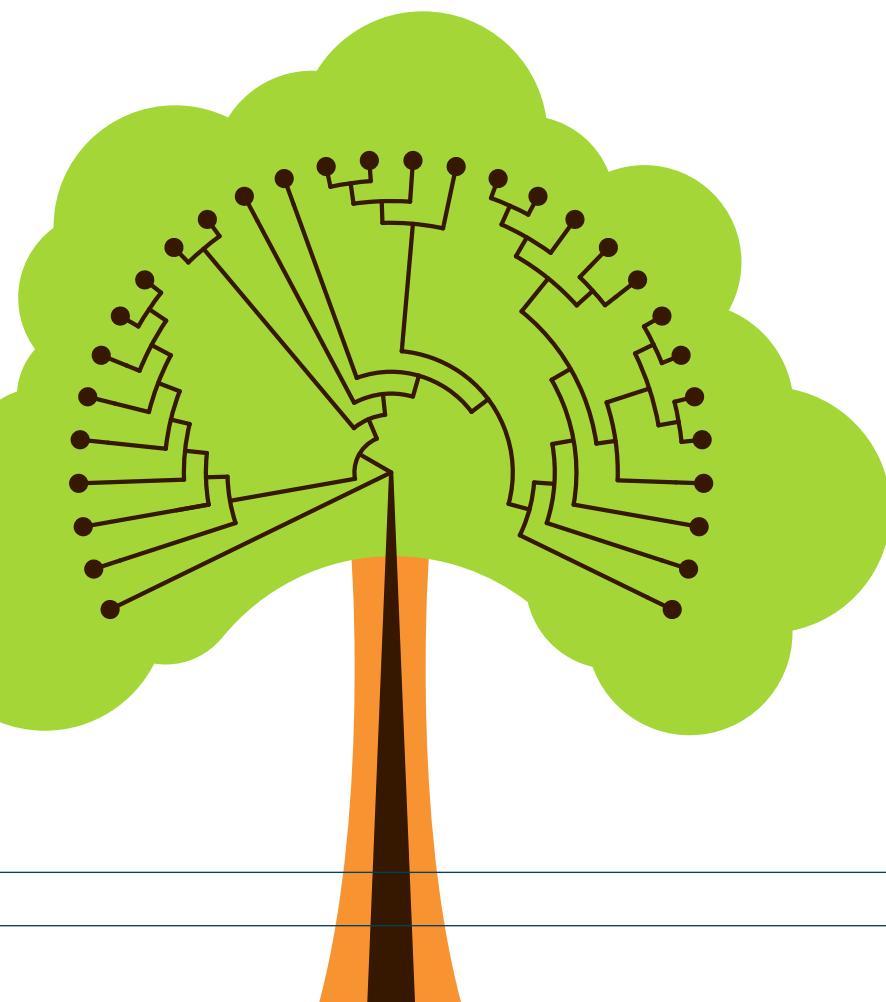


Figura 1.

Imagen do software Bioedit. Fonte: Dados do autor.

Dentre as ferramentas disponíveis no Bioedit pode-se destacar o algoritmo de alinhamento global e múltiplo CLUSTALW; as opções de edição manual de sequências e os métodos de construção de árvores como: Neighbor-Joining (NJ), Consenso, e UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean); possui também opções para personalizar penalidades. É bastante utilizado em combinação com o Chromas (<http://technelysium.com.au/wp/chromas/>) para alinhamento e correção de dados de sequenciamento.

É possível utilizar o Bioedit para diversas atividades, tanto em aula, quanto na pesquisa científica. Professores, estudantes e pesquisadores da área de genética, bioinformática e biologia computacional poderão encontrar neste software um amplo conjunto de ferramentas para aulas e análises. Recomenda-se o seu uso em aulas práticas de alinhamento para que os estudantes adquiram familiaridade com este programa e suas aplicabilidades.



A dupla hélice: como descobri a estrutura do DNA

Watson, J. A dupla hélice: como descobri a estrutura do DNA. Rio de Janeiro: Ed Zahar, 2013

Rhewter Nunes¹, Mariana Pires de Campos Telles^{2*}

¹ Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO

² Escola de Ciências Agrárias e Biológicas, Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-GO) e Laboratório de Genética & Biodiversidade, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO

* E-mail para correspondência: tellesmpc@gmail.com

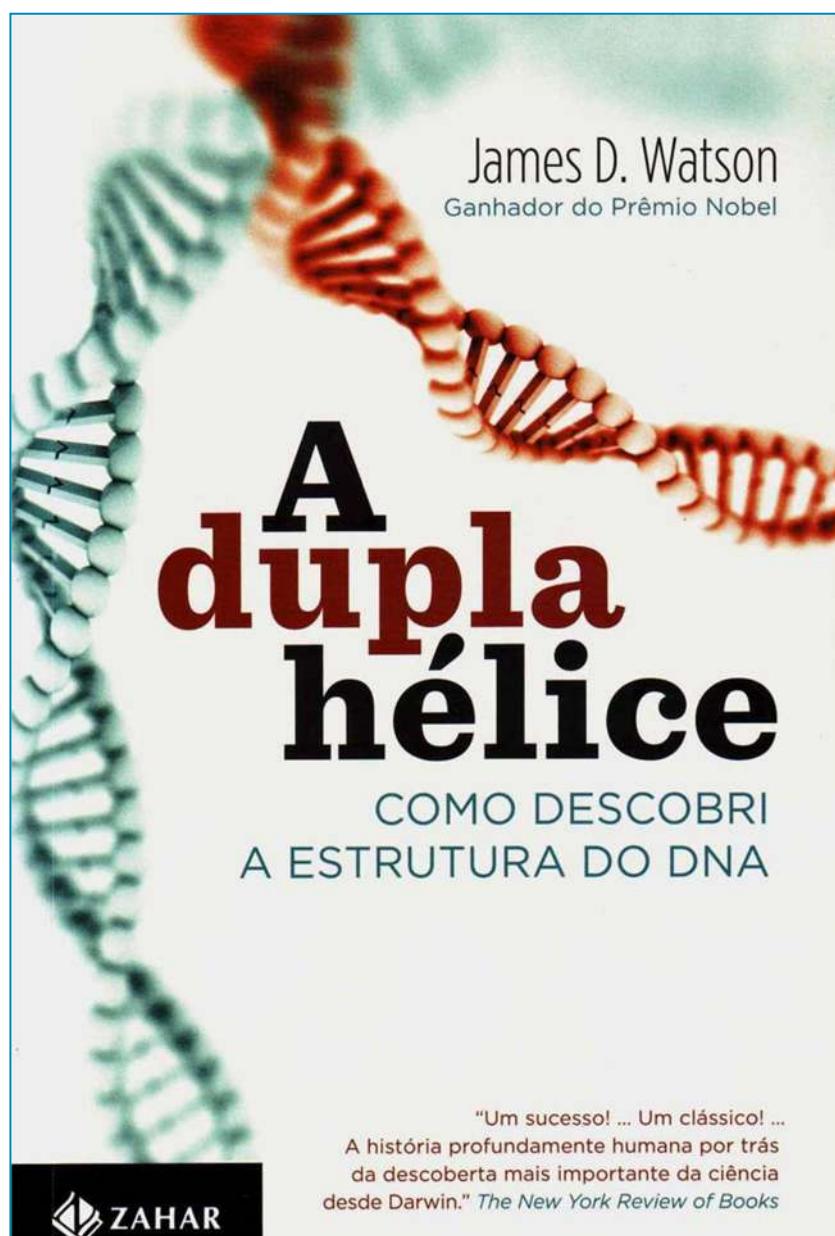
Um dos avanços científicos mais importantes do século XX, a elucidação da estrutura da molécula de DNA, trouxe subsídios importantes para a compreensão de como a informação genética é armazenada e transmitida entre gerações. Em “A dupla hélice: como descobri a estrutura do DNA”, James D. Watson faz um relato sobre os acontecimentos que precederam essa descoberta revolucionária. No Brasil, este livro foi publicado pela editora Zahar em 2014, com tradução de Rachel Botelho e revisão técnica de Denise Sasaki.

Neste livro, James Watson apresenta sua versão de como foi a sucessão de acontecimentos que viria a culminar na sua premiação com um Nobel, juntamente com Francis Crick e Maurice Wilkins, em 1962. Durante essa narrativa é praticamente impossível não se contagiar e se inspirar com o jovem Watson, então pesquisador de apenas 24 anos e que tinha uma vontade incessante de deixar sua marca no mundo da ciência. Essa energia e jovialidade pode ser percebida, por exemplo, no trecho “Era certamente melhor me imaginar ficando famoso do que envelhecendo como um acadêmico reprimido que nunca arriscara uma ideia” ao relatar sua motivação em estudar o “segredo da vida”.

Além de um relato detalhado de como foi, para ele, o processo de estudo e construção do conhecimento necessário para se chegar à descoberta da estrutura do DNA. Durante a leitura é possível ter acesso às angustias profissionais e pessoais de Watson, sua relação, de extrema admiração, com Francis Crick, além de inúmeras observações pessoais e profissionais sobre várias outras pessoas como Maurice Wilkins, Rosalind Franklin, Linus Pauling, seus professores e até mesmo a família de Francis.

A linguagem é bastante acessível, apresenta notas de rodapé com explicações de conceitos científicos importantes e está repleto de

esquemas que ilustram moléculas químicas. Além disso, disponibiliza um encarte com fotos em preto e branco de acontecimentos importantes e da maioria das personalidades descritas por Watson em seus apontamentos. O livro é indicado para qualquer um que deseja conhecer um relato detalhado com o olhar de um dos pesquisadores diretamente envolvidos nessa descoberta tão importante sobre a molécula de DNA. É ainda mais indicado para aqueles que desejam se inspirar em construir uma carreira relacionada à genética.

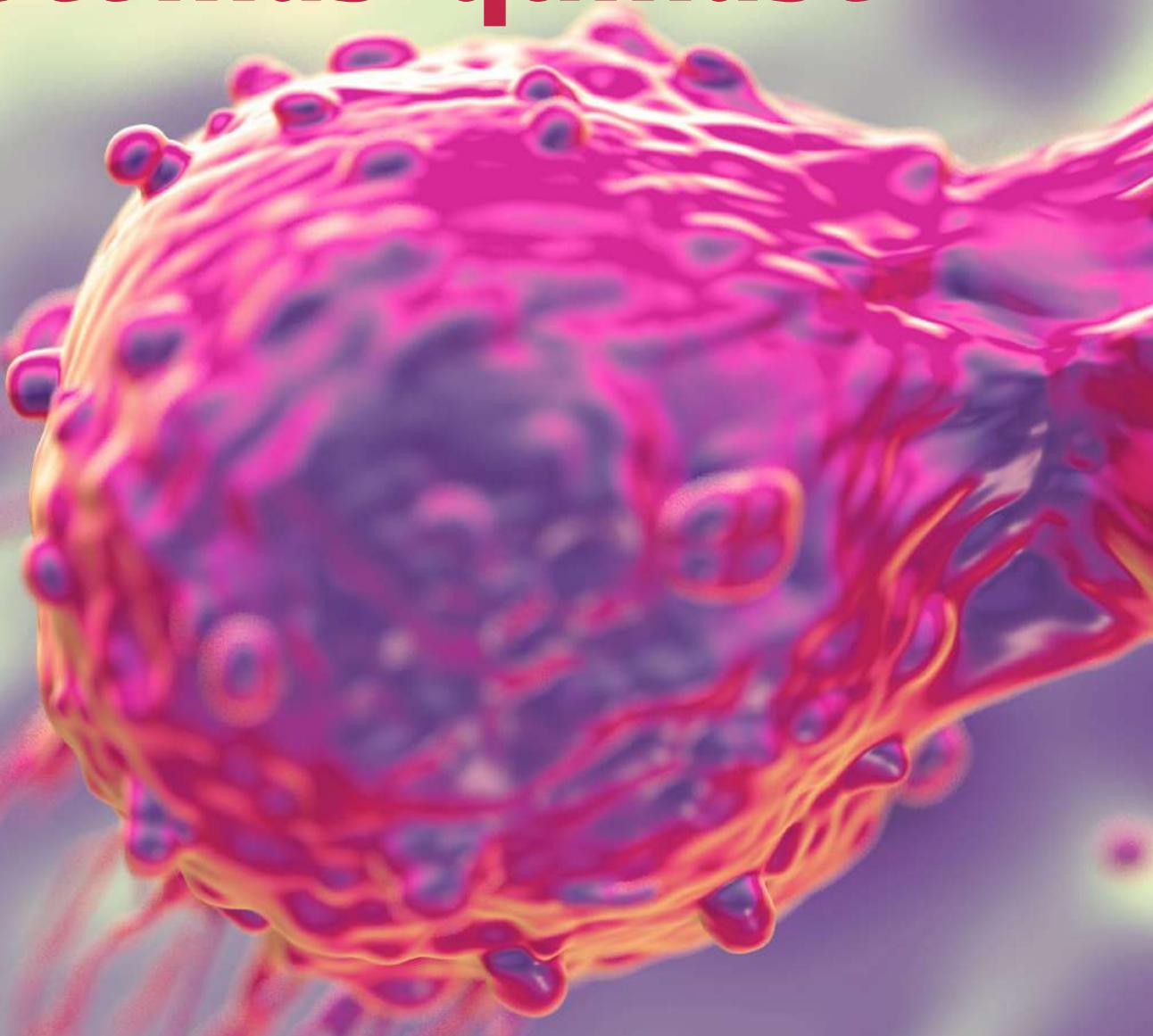


Por se tratar de um livro relativamente curto (pouco mais de 200 páginas), de fácil compreensão e que apresenta um contexto histó-

rico de conceitos científicos importantes para se entender a estrutura do DNA, ele pode ser utilizado em aulas de biologia do ensino médio, ou ainda, indicado para ingressantes dos cursos de Biologia. Diferentes tópicos do tema apresentados na obra podem permitir a discussão de assuntos importantes sobre ciência em sala de aula. Os relatos históricos do processo de conseguir elucidar a molécula de DNA podem ser utilizados para a discussão de como o processo de produção de conhecimento científico é realizado. O fato desse achado científico ser amparado por resultados de trabalhos anteriores, como os de Chargaff, por exemplo, pode ser utilizado para dialogar com os estudantes quanto ao fato de que as descobertas científicas não são verdades absolutas e estáticas e sim que há um acúmulo de evidências que permitem uma boa resposta para uma determinada questão, num determinado intervalo de tempo.

Ainda nesse sentido, o relato de Watson quanto à idealização inicial de um modelo errado para a molécula de DNA com ligações de magnésio, que foi criticado por Rosalind Franklin posteriormente, pode ser utilizado na discussão de como o “fazer ciência” ocorre de maneira colaborativa e que um problema científico, muitas vezes, precisa ser avaliado por especialistas de diversas áreas e com diferentes habilidades e competências. O próprio Watson menciona em um trecho no capítulo de abertura “...há uma ignorância generalizada sobre como a ciência é ‘feita’. Isso não significa que toda ciência é feita da maneira descrita aqui. Está longe de ser o caso, já que os estilos de pesquisa científica são tão variáveis quanto as personalidades humanas.” As afirmações deste trecho podem levantar uma discussão importante sobre questões, tais como: 1) Como funciona o método científico?; 2) Ainda que diferentes trabalhos utilizem o método científico para gerar evidências, existe uma única forma de se fazer ciência?; 3) Se o produto do conhecimento científico não é necessariamente a “verdade”, como esse tipo de conhecimento difere do senso comum?. Todas essas discussões podem ser levantadas em diferentes níveis de profundidade conforme o nível de ensino em que o livro esteja sendo trabalhado.

Gene *SRC* e a família *SRC* de proteínas-quinase



Carlos Alberto Machado da Rocha¹, Carla Mariana Ferreira Pessoa², Nubia Lorena Farias Rabelo³,
Rommel Rodríguez Burbano⁴

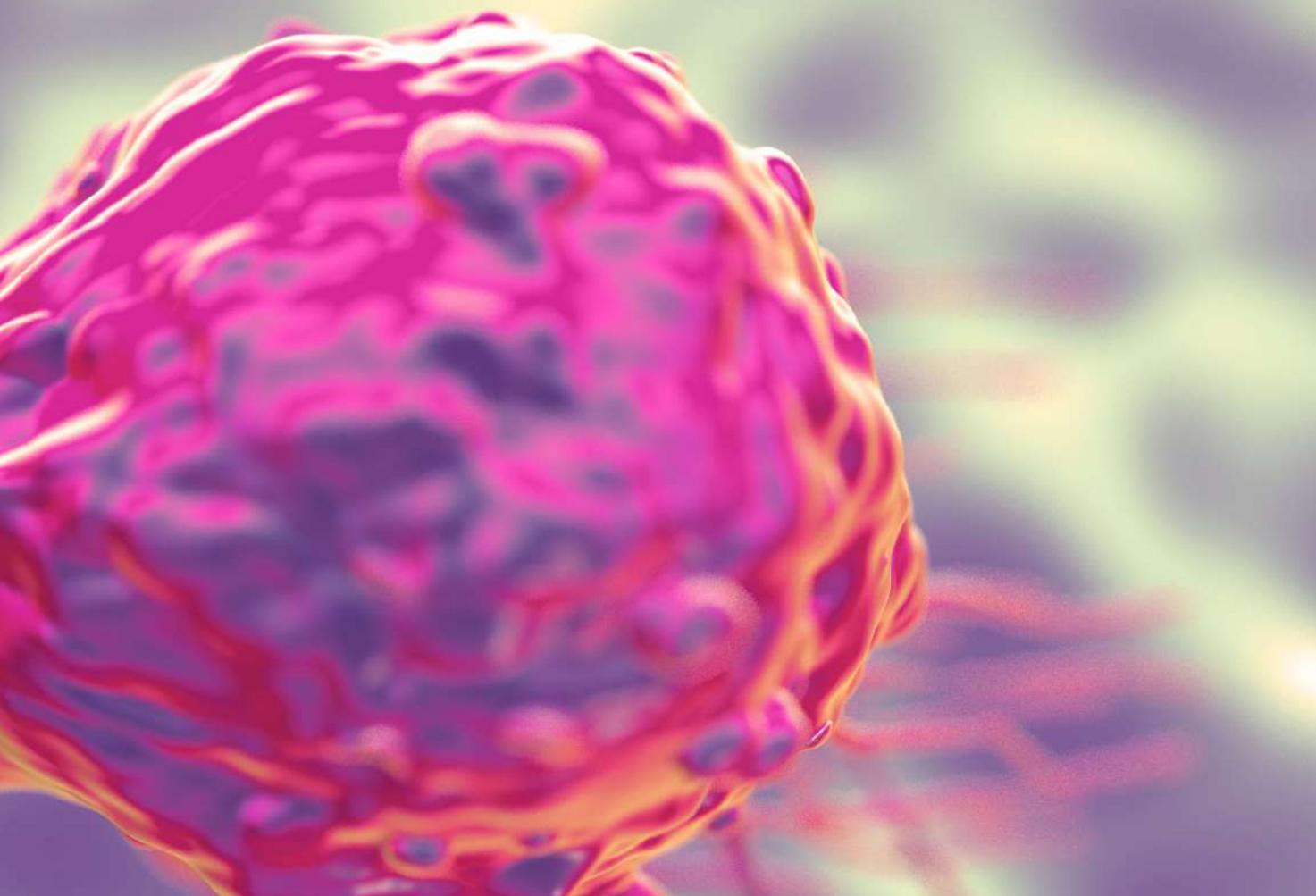
¹ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará (IFPA), Campus Belém, Belém, PA

² Programa de Pós-Graduação em Oncologia e Ciências Médicas, Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém, PA

³ Licenciada em Ciências Biológicas, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará (IFPA), Belém, PA

⁴ Laboratório de Citogenética Humana, Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém, PA

Autor para correspondência: carlos.rocha@ifpa.edu.br; camrocha@hotmail.com



O gene *c-Src* foi o primeiro proto-oncogene descrito, em galinhas, identificado como homólogo celular do gene *v-Src*, do vírus do sarcoma de Rous, responsável por transformar células normais em cancerosas. *c-Src* codifica a proteína *c-Src*, uma tirosina-quinase capaz de fosforilar resíduos de tirosina em diversas proteínas, participando da sinalização celular que ativa processos como a proliferação de células. O artigo apresenta o gene *c-SRC* que, em humanos, localiza-se no cromossomo 20 e a proteína SRC, o membro protótipo da família SRC de tirosina-quinases não receptoras. Mutações em genes da família SRC têm sido implicadas no desenvolvimento e metástase de tumores humanos e o conhecimento dessas mutações vem possibilitando tratamentos com terapias-alvo utilizando inibidores de tirosina-quinases.

O PAPEL DAS TIROSINA-QUINASES E SUAS PRINCIPAIS CLASSES

A maior família de proteínas em eucariotos é a das proteína-quinases (proteína-cinases) que são enzimas catalisadoras da fosforilação de outras proteínas por meio da transferência de um grupo fosforil geralmente do ATP e, em casos excepcionais, de GTP, para um determinado resíduo de treonina (Thr), serina (Ser) ou tirosina (Tyr) da proteína-alvo. A fosforilação desses resíduos promove eventos ou sinalizações extra e intracelulares, que fornecem um mecanismo altamente eficiente para o controle da atividade de proteínas. A remoção de grupos fosforil dessas proteínas é catalisada por proteína-fosfatases. Para que se tenha uma ideia da magnitude desses eventos, cerca de 30% de todas as proteínas humanas contêm fosfato em ligação covalente e o genoma humano codifica em torno de 520 proteína-quinases e em torno de 150 proteína-fosfatases.

Proteínas tirosina-quinases (PTKs, do inglês *protein tyrosine kinases*) podem regular a divisão celular, diferenciação celular, adesão celular, crescimento celular, respostas ao estresse, apoptose, transporte de íons e sinalização extracelular, entre outros processos. PTKs são envolvidas na sinalização celular e, como o nome indica, fosforilam resíduos de tirosina. No estado ativado, as tirosina-quinases fosforilam a si e a determinadas proteínas mediadoras que ativam cascatas de outras fosforilações. Há duas classes principais dessas enzimas: tirosina-quinases receptoras (proteínas transmembrana, ativadas por um ligante extracelular); tirosina-quinases não receptoras (proteínas citoplasmáticas, reguladas por diferentes mecanismos).

As tirosina-quinases citoplasmáticas representam um terço das tirosina-quinases e são enzimas ativadas por certos receptores de superfície celular (receptores associados a tirosina-quinase) que transmitem o sinal do receptor adiante por meio da fosforilação de proteínas-alvo citoplasmáticas nas cadeias laterais de tirosina. Os receptores associados a tirosina-quinase não têm atividade enzimática intrínseca, mas recrutam, diretamente, proteínas tirosina-quinases citoplasmáticas para transmitir o sinal.

As principais famílias de PTKs não receptoras incluem SRC, ABL e JAK. A fosforilação de proteínas por tirosina-quinases não receptoras é reversível e frequentemente utilizada para controlar os sinais intracelulares para o núcleo induzindo alterações conformativas no local de ligação ativo das proteínas fosforiladas, provocando a ativação ou inibição da atividade.

O GENE SRC

Há pouco mais de um século, Peyton Rous descobriu que um **sarcoma** em galinhas domésticas era transmissível de uma ave a outra pelo extrato do tumor passado por um filtro muito fino para conter células de galinha ou mesmo bactérias. Em outras palavras, o agente indutor do tumor era um vírus, mais tarde conhecido como o Vírus do Sarcoma de Rous (RSV). Ao longo dos 20 anos seguintes, os estudos sobre RSV renderam uma mistura incrivelmente rica de informações novas e surpreendentes, dentre as quais a de que a **transformação celular** era causada por um único gene (*v-Src*).

Na década de 1970, um trabalho conjunto de J. Michael Bishop e Harold Varmus viu produzir uma **sonda de DNA** que reconhecesse especificamente, no genoma de RSV, sequências associadas à transformação (ou seja, sequências *Src*), para compreender melhor suas origens e funções. Porém, ao final do experimento, houve uma interessante surpresa. Os pesquisadores observaram que as sequências *Src* também estavam presentes nas células não-infectadas. Após uma cuidadosa caracterização dessas sequências *Src*, ficou estabelecido que elas ocorrem normalmente em galinhas, além de em outras aves e mamíferos, variando apenas o grau de similaridade.

O gene *c-Src*, que codifica a proteína tirosina-quinase não receptora *c-Src*, foi o primeiro **proto-oncogene** a ser descrito, ao ser identificado como o homólogo celular de *v-Src*, o fator de transformação do retrovírus do sarcoma de Rous. Em humanos, o *c-SRC* localiza-se no braço longo do cromossomo 20 (banda 20q11.23) (Figura 1), é constituído por 61,36 kb, entre os pares de bases 37.344.685 e 37.406.045, apresentando 14 exons.

O termo **Sarcoma** deriva do grego e significa "crescimento carnoso". É um tipo de câncer relativamente raro, causado pela proliferação de células de origem mesodérmica, que pode atingir ossos, músculos, cartilagens, tecido adiposo e vasos sanguíneos. Pode ser encontrado em qualquer parte do corpo, mas é mais comum desenvolver-se nas pernas e braços.

Transformação celular é o processo de conversão de uma célula normal em uma célula contendo alguns ou muitos dos atributos de uma célula cancerosa.

Sonda de DNA é um DNA fita simples, de tamanho pequeno (geralmente entre 50 e 300 bases), que está marcado com uma substância radiativa ou conjugado a um produto que permita sua posterior visualização. Assim, o objetivo de uma sonda é encontrar (hibridizar com) um trecho de um DNA para o qual ela seja pelo menos parcialmente complementar e, em seguida, permitir que sua localização seja identificada.

Proto-oncogene é um gene envolvido no crescimento (proliferação) celular normal. Mudanças (mutações) em um proto-oncogene podem fazer com que ele se torne um oncogene, o que pode causar o crescimento de células cancerosas.

Splicing alternativo é

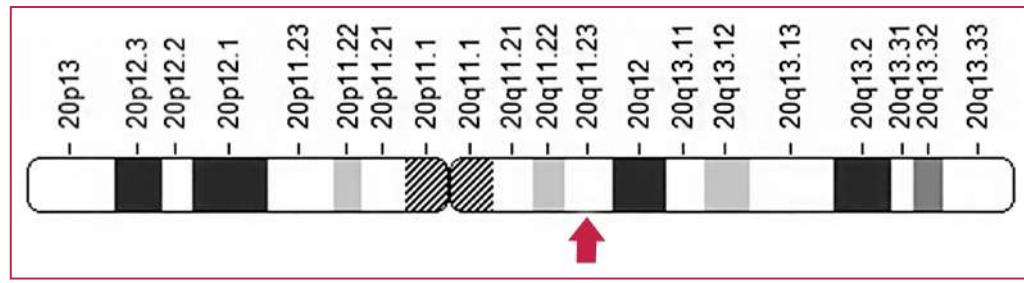
um processo que integra a regulação da expressão gênica, no qual certos exons podem ser incluídos ou excluídos do RNAm produzido por determinado gene, resultando na codificação de mais de uma proteína por um mesmo gene.

Isoformas são formas

distintas de uma proteína, que podem ser geradas por genes diferentes, porém relacionados, ou geradas pelo mesmo gene através do processo de *splicing* alternativo. As isoformas podem ser expressas em compartimentos subcelulares diferentes ou em tecidos diferentes.

O RNA transcrito primário contém íntrons e exons. Antes que ocorra a tradução, os íntrons precisam ser removidos e os exons do transcrito são, então, ligados uns aos outros, do que resulta o mRNA maduro. Esse complexo processo de recomposição é

chamado *splicing*. O transcrito primário do gene SRC sofre um ***splicing alternativo***, produzindo dois mRNA maduros, cada um a partir de 12 exons. Como resultado podem ser sintetizadas duas **isoformas** da proteína SRC.

**Figura 1.****Localização do gene SRC.**

São mostradas as bandas do cromossomo 20, com a seta indicando a localização do gene na banda 20q11.23.

Sequência canônica é a sequência consenso usada para descrever todos os produtos proteicos codificados por um gene em determinada espécie. A escolha dessa sequência baseia-se em critérios como a maior prevalência e maior semelhança com sequências relacionadas encontradas em outras espécies.

A PROTEÍNA SRC

A proteína c-SRC é uma tirosina-quinase não receptora, produto de expressão do gene c-SRC. Apresenta duas isoformas, como produtos de *splicing* alternativo (Tabela 1). A isoforma 1 tem massa de 59.835 Da, 536 resíduos de aminoácidos e o comprimento total da sequência codificante corresponde a 1.608 nucleotídeos. A Isoforma 2 tem massa de 60.589 Da, 542 resíduos de aminoácidos e o comprimento total da sequência codificante corresponde a 1.626 nucleotídeos. A isoforma 1 foi escolhida como a

total da sua sequência codificante corresponde a 1.608 nucleotídeos. A Isoforma 2 tem massa de 60.589 Da, 542 resíduos de aminoácidos e o comprimento total da sequência codificante corresponde a 1.626 nucleotídeos. A isoforma 1 foi escolhida como a **sequência canônica** (Figura 2).

Tabela 1.

Relação dos exons de SRC, com sua variação de tamanho e participação na codificação das duas isoformas da proteína SRC.

Exons	Comprimento (nº de nucleotídeos)	Codificando para Isoforma 1	Codificando para Isoforma 2
1	183	X	
2	254	X	X
3	100	X	X
4	18		X
5	99	X	X
6	104	X	X
7	150	X	X
8	156	X	X
9	180	X	X
10	77	X	X
11	154	X	X
12	132	X	X
13	2262	X	
14	2880		X

"X" indica participação.

UM GENE

10	20	30	40	50
MGSNKSKPKD	ASQRRRSLEP	AENVHGAGGG	AFPASQTPSK	PASADGHRGP
60	70	80	90	100
SAAFAFAPAAAEE	PKLFGGFNSS	DVTSPQRAG	PLAGGVITTFV	ALYDYESRTE
110	120	130	140	150
TDLSFKKGGER	LQIVNNTEGD	WWLAHSLSTG	QTGYIPSNYV	APSDSIQAEF
160	170	180	190	200
WYFGKRTRRE	SERILLNAEN	PRGTFLVRES	ETTKGAYCLS	VSDFDNAKGL
210	220	230	240	250
NVKHYKIRKL	DGGFYITSR	TQFNSLQQLV	AYYSKHADGL	CHRLTTVCPT
260	270	280	290	300
SKPQTQGLAK	DAWEIPRESL	RLEVKGQGC	FGEVWMGTWN	GTTRVAIKTL
310	320	330	340	350
KPGTMSPEAF	LQEAQVMKKL	RHEKLVQLYA	VVSEEPPIYIV	TEYMSKGSLL
360	370	380	390	400
DFLKGETGKY	LRLPQLVDMA	AQIASGMAYV	ERMNYVHRDL	RAANILVGEN
410	420	430	440	450
LVCKVADFGL	ARLIEDNEYT	ARQGAKFPIK	WTAAPEAALYG	RFTIKSDVWS
460	470	480	490	500
FGILLTELTT	KGRVPYPGMV	NREVLDQVER	GYRMPCPPEC	PESLHDLMCQ
510	520	530		
CWRKEPEERP	TFEYLQAFLE	DYFTSTEPQY	QPGENL	

Abreviações		Aminoácidos
A	Ala	Alanina
C	Cys	Cisteína
D	Asp	Ác. Aspártico
E	Glu	Ác. Glutâmico
F	Phe	Fenilalanina
G	Gly	Glicina
H	His	Histidina
I	Ile	Isoleucina
K	Lys	Lisina
L	Leu	Leucina
M	Met	Metionina
N	Asn	Asparagina
P	Pro	Proline
Q	Gln	Glutamina
R	Arg	Arginina
S	Ser	Serina
T	Thr	Treonina
V	Val	Valina
W	Trp	Triptofano
Y	Tyr	Tirosina

A proteína c-SRC é o membro protótipo de uma família de nove tirosina-quinases não receptoras (SRC, FYN, YES, LYN, LCK, HCK, BLK, FGR, FRX) que partilham a mesma estrutura de quatro domínios: o domínio catalítico (domínio quinase – SH1), que contém o sítio ativo da tirosina-quinase;

dois domínios que permitem a interação com outras proteínas (SH2 e SH3); o domínio único, que varia entre os membros da família. A extremidade aminoterminal (N-terminal) inclui um sítio de **miristilação**, com importância no ancoramento da proteína à porção citosol da membrana.

Figura 2.

Aminoácidos da proteína SRC. À esquerda, a sequência canônica de aminoácidos da proteína SRC humana. À direita, a relação dos aminoácidos com suas abreviações.

Miristilação é uma modificação pós-traducional de proteínas que possibilita à proteína modificada interagir com um receptor de membrana ou com a própria bicamada lipídica. Essa modificação consiste na transferência de uma cadeia lipídica derivada do ácido mirístico ($C_{14}H_{28}O_2$), mediada pela proteína N-miristoil transferase, para o aminoácido glicina no N-terminal da proteína.

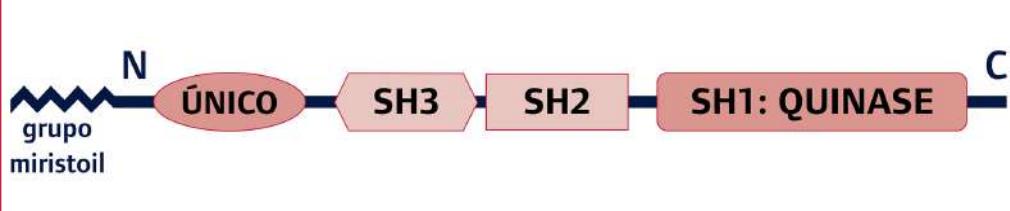


Figura 3.

Estrutura de domínios da família SRC de proteína-quinases.

Fatores de crescimento

são moléculas geralmente proteicas, relacionadas ao controle do ciclo celular pela ligação a receptores de superfície celular específicos apresentados pela célula. Além de estimular a proliferação celular (crescimento), influenciam na migração e diferenciação de células.

As pesquisas bioquímicas do gene SRC e da proteína que ele codifica, bem como das outras proteína-quinases da família SRC, indicaram como a sinalização celular utiliza fatores de crescimento (Figura 4). Dessa forma, foram

identificados receptores utilizados pelas células para **fatores de crescimento** e também as vias de sinalização intracelular relacionadas ao controle da proliferação tanto de células normais quanto de células malignas.

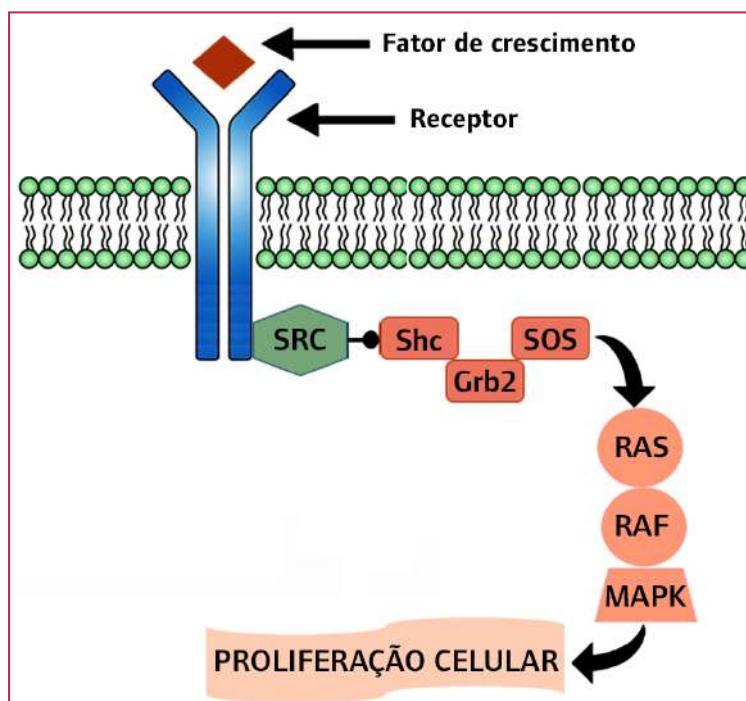


Figura 4.

Representação simplificada dos componentes de uma cascata de sinalização para proliferação celular incluindo a participação de SRC. Além de SRC, outras proteína-quinases (Shc, Grb2, SOS, RAS, RAF e MAPK) participam dessa via de sinalização cujo resultado final é a proliferação celular.

Uma proteína quinase caracteriza-se pela capacidade de fosforilar múltiplos substratos. No caso particular de SRC, já são mais de 50 diferentes substratos proteicos descritos. A proteína SRC apresenta, então, uma ação **pleiotrópica**, uma vez que cada substrato por ela fosforilado pode ser alterado e continuar alterando as atividades de seu próprio grupo de alvos, abaixo na cascata de sinalização.

RELAÇÃO DE SRC COM O CÂNCER

Pleiotrópica é a condição genética em que um único gene interfere sobre as manifestações de várias características.

Considera-se que alterações genéticas nos sistemas reguladores do ciclo celular são o mecanismo primário da carcinogênese (desenvolvimento do câncer). Neste sentido, duas classes de genes e suas mutações são fundamentais na origem de um tumor: os proto-oncogenes e os genes supressores tumorais. Os proto-oncogenes são genes que

normalmente ajudam as células a proliferar. Entretanto, quando um proto-oncogene sofre mutação, sua expressão torna-se ampliada (passa a ser um oncogene), aumentando os níveis de seu produto (oncoproteína) e, dessa forma, contribui para a proliferação celular exagerada. Os genes supressores tumorais são reguladores negativos do ciclo celular, atuando como “freios” para mantê-lo no ritmo normal. Caso ocorram mutações com perda de função nesses genes supressores tumorais, a proliferação tende a acelerar.

A tirosina-quinase SRC atua como regulador positivo do ciclo celular. Como já mencionado, SRC aparece como componente de uma cascata de sinalização para proliferação celular. A proteína SRC, por sinal, foi a primeira oncoproteína a ser estudada, permitindo aos pesquisadores uma visão inicial sobre os mecanismos que levam células normais a transformar-se em células cancerígenas.

O proto-oncogene *c-SRC* tem sido fortemente implicado no desenvolvimento, progressão e metástase de diversos tumores humanos, incluindo o câncer gástrico, o colorretal, o de cérebro, mama e pâncreas, podendo desempenhar um papel central nos processos que resultam nesses cânceres. Acumulam-se registros de que tanto os níveis de proteínas SRC quanto, em maior grau, a atividade dessas quinases, estão frequentemente aumentados em tecidos tumorais humanos quando comparados aos tecidos normais adjacentes. Além disso, parece haver uma correlação positiva entre os níveis de proteínas SRC e os estágios da doença.

Sabe-se hoje que quinases SRC podem ser ativadas por certas unidades de **proteína G**. A habilidade dos receptores acoplados à proteína G (GPCRs, do inglês *G protein-coupled receptors*) em ativar rotas mitogênicas sugere que a desregulação da sinalização por esses receptores, ou das próprias proteínas G associadas, também pode contribuir para a transformação celular e carcinogênese.

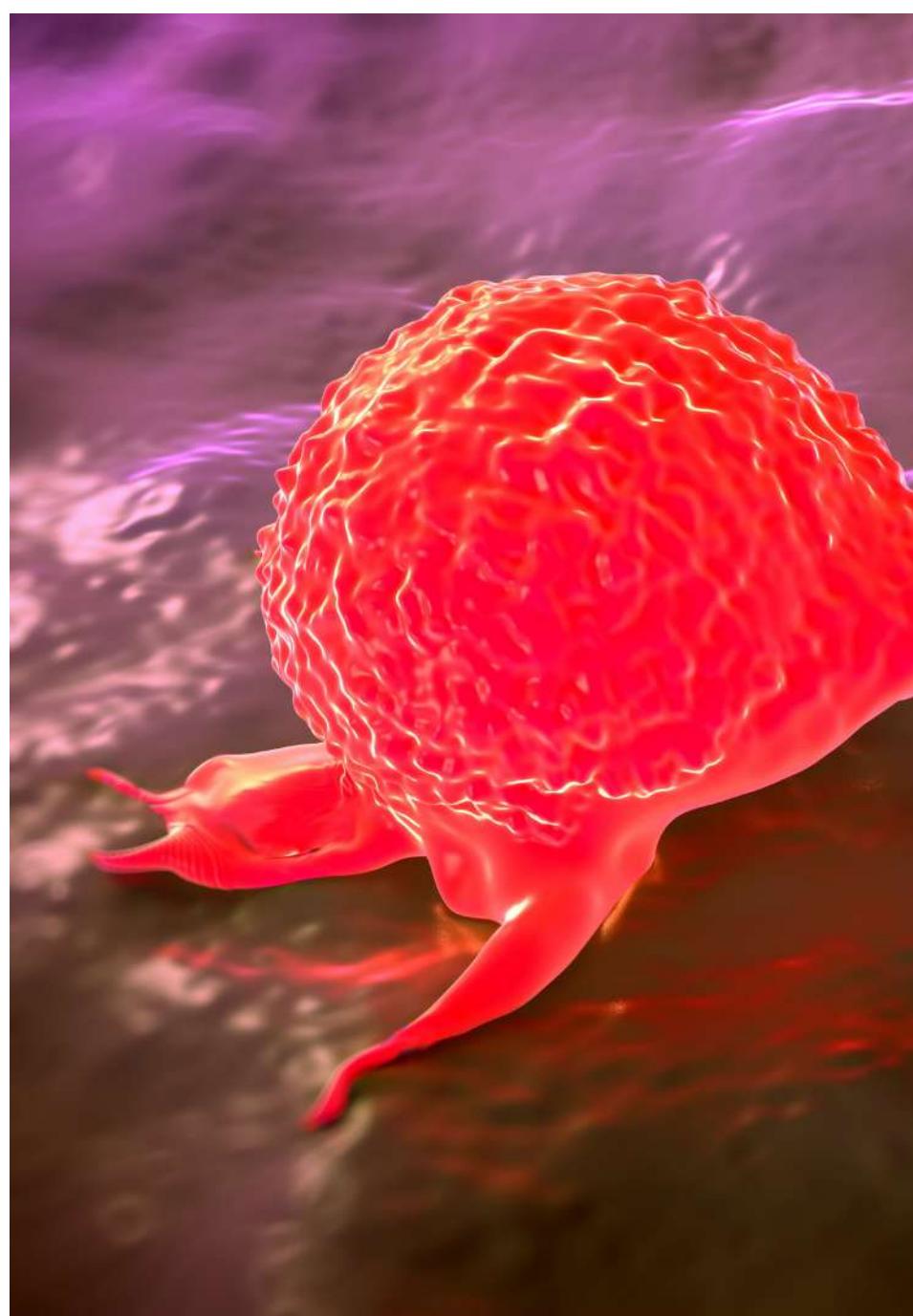
À medida que mecanismos envolvidos nas mutações de genes que codificam para PTKs foram sendo elucidados, passou a ser possível o tratamento de várias patologias em que ocorrem tais mutações focado na terapêutica-direcionada com inibidores das PTKs. Uma vantagem desse tipo de terapêutica farmacológica em relação à quimioterapia está na sua especificidade para o alvo, contribuindo para uma diminuição da toxicidade.

O Imatinibe (Glivec[®]) foi o primeiro inibidor de PTKs aprovado pela FDA (*Food and Drug Administration*) nos Estados Unidos, em 2001, tendo apresentado um grande impacto, por exemplo, no tratamento da leucemia mieloide crônica (LMC). Em mais de 90% dos pacientes com LMC, o gene híbrido *BCR-ABL* produz a proteína *BCR-ABL* com atividade de tirosina-quinase elevada, responsável pela patogênese da doença. O Imatinibe é capaz de inibir a atividade tirosina-quinase de algumas proteínas, incluindo a *BCR-ABL*.

Ao longo de mais de uma década a classe farmacológica dos inibidores de PTKs experi-

mentou uma franca expansão, de modo que vários novos fármacos foram aprovados e outros encontram-se em fases avançadas de testes. O Dasatinibe (Sprycel[®]), por exemplo, tem ação inibidora contra *BCR-ABL* e quinases da família SRC, e foi aprovado para o tratamento de adultos com LMC com intolerância ou resistência ao Imatinibe; o Lapatinibe (Tykerb[®]), aprovado para pacientes com câncer de mama avançado ou metastático; o Apatinibe, atualmente

Proteína G é uma classe de proteínas citosólicas com função importante na transdução de sinais celulares. O uso da letra G na sua identificação relaciona-se ao fato de funcionarem como chaves moleculares, alternando entre um estado inativo de ligação com uma guanosina difosfato (GDP) e outro ativo com uma guanosina trifosfato (GTP).



Angiogênese é a formação de novos vasos sanguíneos. Esses vasos recém-formados tanto podem penetrar no tumor quanto podem ser periféricos. Sem a ocorrência de angiogênese, o tumor não poderia desenvolver-se plenamente e muito menos proliferar em outros órgãos.

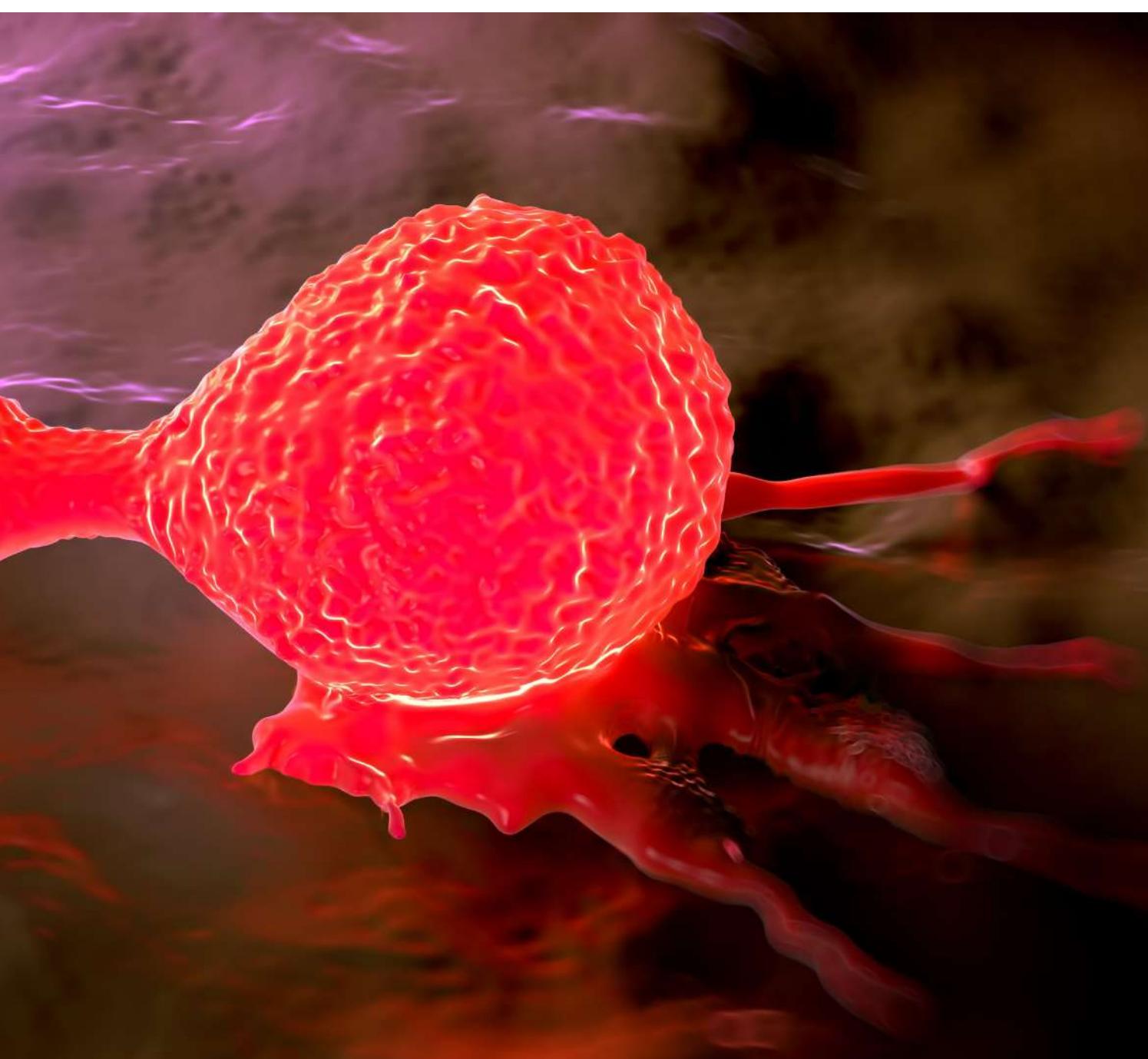
em fase III de pesquisa clínica (última fase antes da comercialização), para tratamento de adenocarcinoma gástrico metastático. O principal mecanismo de ação desses medicamentos tem como base o bloqueio do local de ligação do ATP das PTKs. Com o bloqueio do local, as PTKs não conseguem transferir fosfatos para os resíduos tirosina. Por sua vez não ocorre transdução do sinal e, consequentemente, não ocorre proliferação celular, nem **angiogênese**.

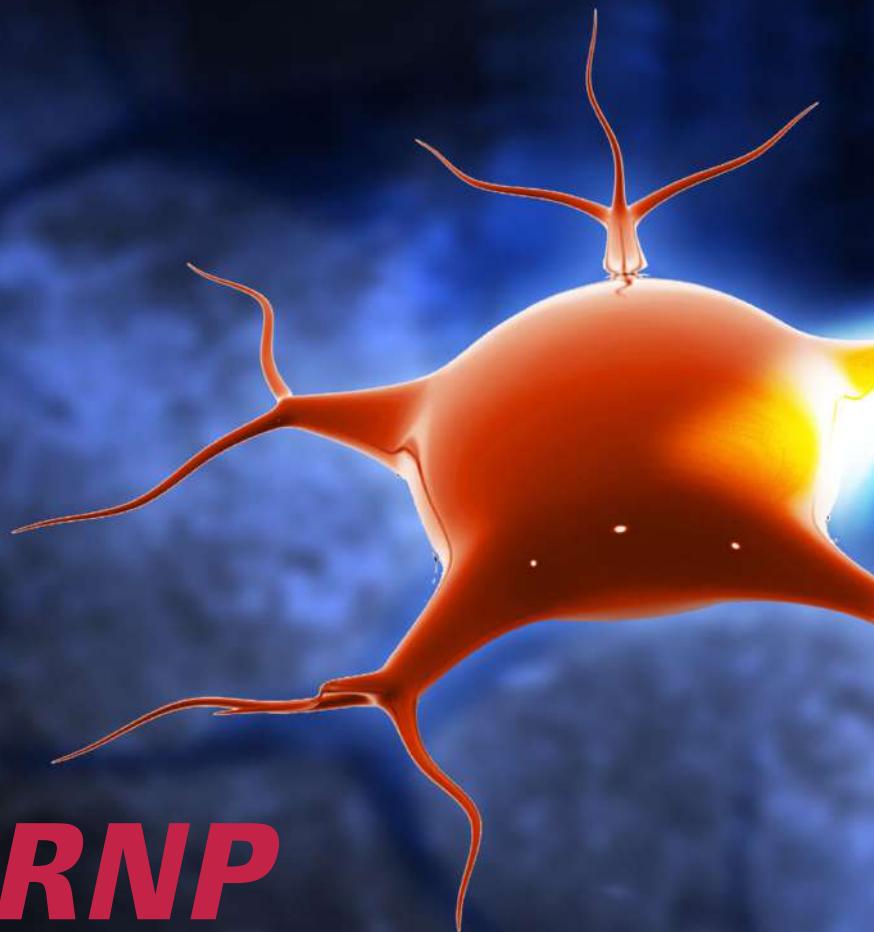
PARA SABER MAIS

HARTMANN, J. T.; HAAP, M.; KOPP, H-G.; LIPP, H-P. Tyrosine kinase inhibitors - a review on pharmacology, metabolism and side effects. *Current Drug Metabolism*, v. 10, p. 470-481, 2009.

SILVA, B. V.; HORTA, B. A. C.; ALENCAS-TRO, R. B.; PINTO, A. C. Proteínas quinases: características estruturais e inibidores químicos. *Química Nova*, v.32, n. 2, p. 453-462, 2009.

WEINBERG, R. A. *A biologia do câncer*. Porto Alegre: Artmed, 2008.





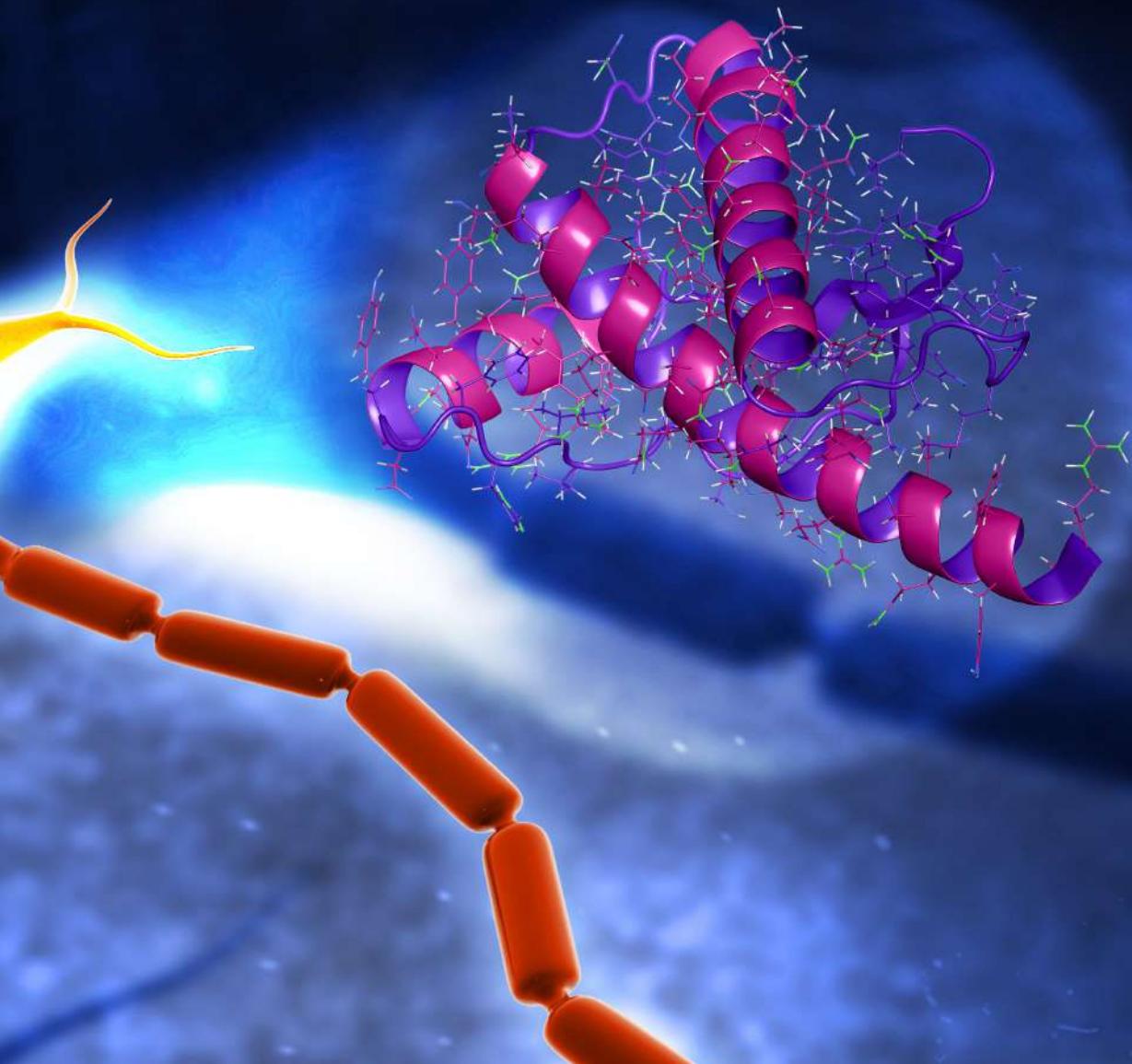
O gene *PRNP* codificador da proteína príon e o mal da vaca louca

Gabriel José de Carli^{1,2} e Tiago Campos Pereira^{1,2}

¹ Depto. de Biologia, Faculdade de Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo

² Programa de Pós-Graduação em Genética, FMRP, Universidade de São Paulo, Monte Alegre, Ribeirão Preto, SP

Autor para correspondência: tiagocampospereira@ffclrp.usp.br



A proteína prion é singular na biologia e medicina devido a uma característica incrível: é capaz de se apresentar em conformações (isto é, estruturas terciárias) com propriedades biológicas totalmente diferentes. A primeira possui papel na manutenção das condições ideais para o bom funcionamento neuronal (homeostase), ao passo que a segunda é patogênica e causa um conjunto de doenças neurodegenerativas fatais com propriedades únicas: são herdáveis, transmissíveis e/ou esporádicas. Os estudos destes aspectos não convencionais da proteína prion já resultaram em dois prêmios Nobel (1976 e 1997). Este artigo apresenta o gene *PRNP*, codificador da proteína prion, suas características e como esse polipeptídio é capaz de causar doenças devastadoras como o mal da vaca louca. Discussões sobre como essa proteína se propaga e uma inovadora forma de detecção da proteína patogênica também serão apresentadas.

A PROTEÍNA PRÍON (PRNP)

Alguns grupos de mamíferos (primatas, bovinos, ovinos, cervídeos e murinos) possuem uma proteína muito especial denominada príon (PRNP) [revisto em SARNATARO *et al.*, 2017]. Em humanos ela é naturalmente encontrada em mais de 20 diferentes órgãos/tecidos (e.g., medula óssea, esôfago, coração, fígado, placenta, pele, baço, endométrio e pulmão) porém, de forma mais abundante, no cérebro e cerebelo. A príon humana é uma glicoproteína, isto é, um polipeptídeo que possui duas cadeias de oligosacarídeos ligados a ele; a outra extremidade (carboxi-terminal) é ancorada à membrana plasmática via outras modificações químicas.

Não há um consenso na comunidade científica a respeito da função fisiológica precisa da proteína príon no cérebro. Estudos em culturas de células e em diferentes espécies animais sugerem que a proteína PRNP pode atuar na diferenciação e proteção neuronal, na **transdução de sinais** e na homeostase da bainha de mielina do sistema nervoso periférico. Portanto, a proteína príon parece estar envolvida em uma série de atividades

que visam a proteger e permitir o perfeito funcionamento dos neurônios.

O GENE PRÍON (PRNP)

O gene *PRNP* humano é autossômico (localizado no cromossomo 20, banda p13) e contém 2 exons e um íntron (este último de 12.698 pares de bases; número de acesso no GenBank: NG_009087.1), originalmente identificado no ano de 1986. Curiosamente, a região reguladora desse gene (promotor) não apresenta o domínio ultraconservado “TATA box”, mas contém o domínio “CCAAT box” e regiões ricas em “GC”. A partir desse gene podem ser geradas algumas formas variantes de mRNAs (diferindo um pouco em tamanho), mas quase todas codificam a mesma proteína príon (*major prion protein*). Na “variante 1”, que é a maior, os exons possuem 419 e 2.380 nucleotídeos (nt) respectivamente. A região codificadora desses exons corresponde a 762 nt, cuja tradução resulta em uma proteína de 253 resíduos de aminoácidos (Figura 1). O polipeptídeo príon celular (*PrP^C*- ‘C’ deriva do termo *celular*) apresenta uma **estrutura terciária** rica em hélices α e é sensível à ação de proteases.

Transdução de sinal -

conversão de um sinal físico ou químico para outro tipo de sinal. Por exemplo, conversão de luz em um sinal químico na célula.

Estrutura terciária é a conformação tridimensional da proteína, isto é, seu enovelamento.

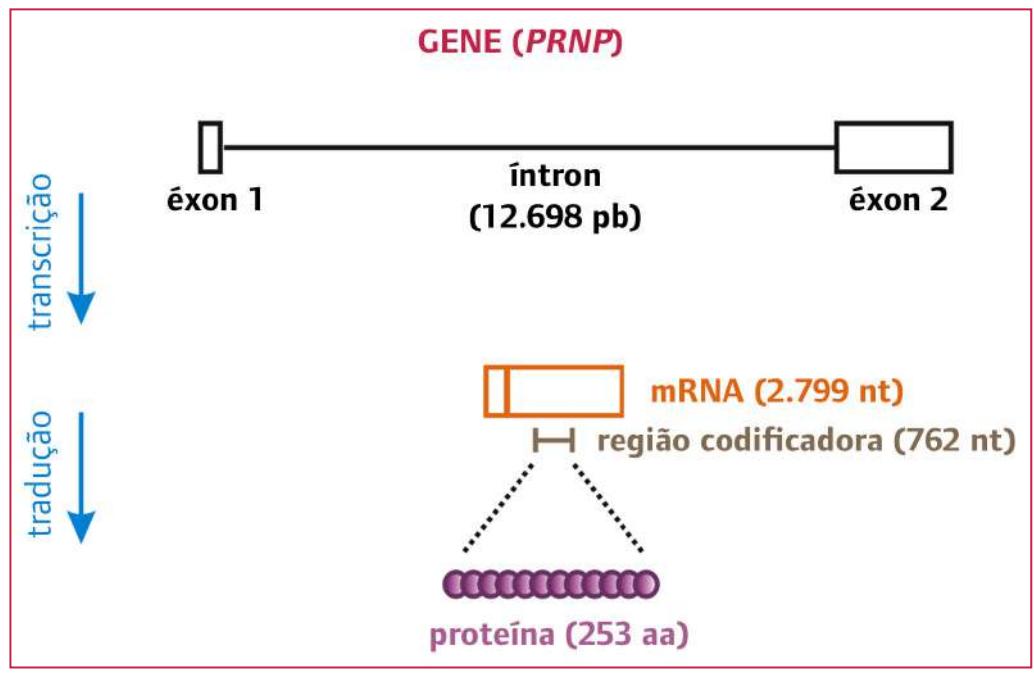


Figura 1.

A estrutura do gene *PRNP*. O gene codificador da proteína príon (*PRNP*) possui apenas dois exons (mostrados em escala). A transcrição resulta em um RNA mensageiro de aproximadamente 2.800 nucleotídeos (desconsiderando-se a cauda de poliadenosinas). Apenas uma pequena porção do exon dois é codificante, sendo responsável pela proteína PRNP de 253 resíduos de aminoácidos. Nota: os bancos oficiais de sequências genéticas consideram o “códon de parada” como parte integrante da “região codificadora”, por isso a proteína possui apenas 253 resíduos de aminoácidos.

MUTAÇÕES NO GENE *PRNP*

Kuru - doença causada por príons caracterizada por perda progressiva da coordenação e controle musculares.

Síndrome de Gerstmann-Straussler - uma doença rara, herdável, mediada por príons, de início geralmente em adultos, caracterizada por perda de memória, demência, perda de coordenação de movimentos musculares voluntários e de equilíbrio, além de depósito de placas amiloïdes no cérebro.

Folha β é um tipo específico de padrão de enovelamento proteico, no qual seções da cadeia polipeptídica alinharem-se, unidas por ligações de hidrogênio, uma ao lado da outra.

Diversas mutações têm sido descritas no gene *PRNP* (ou seus homólogos), causando um grupo de condições neurodegenerativas denominadas conjuntamente de **encefalopatias espongiformes**. Essas doenças têm em comum um longo período de incubação, a morte de muitos neurônios, levando ao surgimento de vacúolos cerebrais que, em última instância, conferem ao encéfalo um aspecto de esponja (por isso o termo *espongiforme*), resultando na morte. Exemplos de encefalopatias espongiformes em humanos são: o **Kuru**, a **doença de Creutzfeldt-Jakob** (CJD), a **síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker**

(GSS) e a **Insônia Familiar Fatal** (FFI). Em animais podem ser mencionadas as encefalopatias espongiformes: bovina, feline, de mustelídeos, de ungulados exóticos, de veados e de ovelhas (esta última conhecida como *scrapie*).

Provavelmente, a encefalopatia espongiforme mais conhecida seja a bovina, vulgarmente conhecida como o 'mal da vaca louca', que afetou o gado do Reino Unido no início da década de 1990. A ingestão de carne contaminada promoveu um aumento dos casos de CJD em humanos no Reino Unido nos anos seguintes (devido ao longo período de incubação) e levou à incineração de grande parte do gado daquela região [BRADLEY, 1998]. Por sua vez, o gado de corte foi possivelmente infectado ao consumir ração composta por carcaças de animais mortos, como ovelhas afetadas por *scrapie*. Note, portanto, que essas encefalopatias espongiformes são transmissíveis (EETs).

O curioso fato deve-se a uma particularidade da proteína príon: mutações no gene *PRNP* resultam em uma forma alterada da proteína denominada *PrP^{Sc}* ('Sc' deriva do termo *scrapie*). Esta versão proteica é rica em **folhas β** , resistente a proteases, acumulam-se no ambiente extracelular (em total contraposição à versão celular) e capaz de converter a forma *PrP^C* em *PrP^{Sc}*, processo este que pode ser interpretado como a propagação da *PrP^{Sc}*. Assim, a introdução de uma proteína *PrP^{Sc}* em uma célula sadias, rica em *PrP^C*, resultará na modificação de *PrP^C* em *PrP^{Sc}*. Esta última é propensa a formar agregados celulares (fibrilas), as quais crescem e estariam relacionadas com a morte neuronal.

Portanto, se um indivíduo tiver uma mutação no gene *PRNP*, pode desenvolver a doença de *Creutzfeldt-Jakob*. Mas, mesmo que ele não tenha a mutação, pode apresentar a doença se consumir carne bovina contaminada (e.g., animal com a doença da vaca louca). Considera-se que a príon bovina ingerida não seja degradada após a ingestão (por ser resistente a proteases) e por fim atinge o tecido nervoso humano, causando a CJD por converter a proteína *PrP^C* em *PrP^{Sc}*, desencadeando assim a doença. O fenômeno de conversão (amplificação ou replicação) confere à proteína príon o status de *agente patogênico* desprovido de ácido nucleico - algo singular na biologia.

Doença de Creutzfeldt-Jakob

- doença causada por príons, caracterizada por problemas de memória, nervosismo e que progride para movimentos bruscos e trêmulos das mãos, perda de expressão facial e marcha instável.

Insônia Familiar Fatal

- uma doença causada por príons, caracterizada por insônia, alucinações, delírios e disautonomia precedendo deterioração motora e cognitiva.

UM GENE

Por fim, mesmo não apresentando mutações no gene *PRNP*, nem ingerindo carne contaminada, uma pessoa pode desenvolver doença de Creutzfeldt-Jakob, pois a PrP^C pode espontaneamente se converter em PrP^{Sc}. Isso é possível porque, durante o processo de tradução, uma cadeia polipeptídica nascente (emergindo do ribossomo) começa a enovelar-se (procurando uma conformação tridimensional termodinamicamente estável). Erros nesse processo podem ocorrer: a PrP^C pode accidentalmente enovelar-se em PrP^{Sc},

que é termodinamicamente mais estável. Portanto, EETs podem surgir por três mecanismos diferentes: herança genética (forma herdável da doença, devido a mutações no gene *PRNP*), contaminação (exposição à PrP^{Sc}, evidenciando a transmissibilidade da doença) ou espontaneamente (forma esporádica da doença, devido ao enovelamento incorreto da proteína prion, na ausência de mutação no gene) (Figura 2). Novamente, esse intrigante aspecto rende a essas encefalopatias uma posição ímpar na medicina.

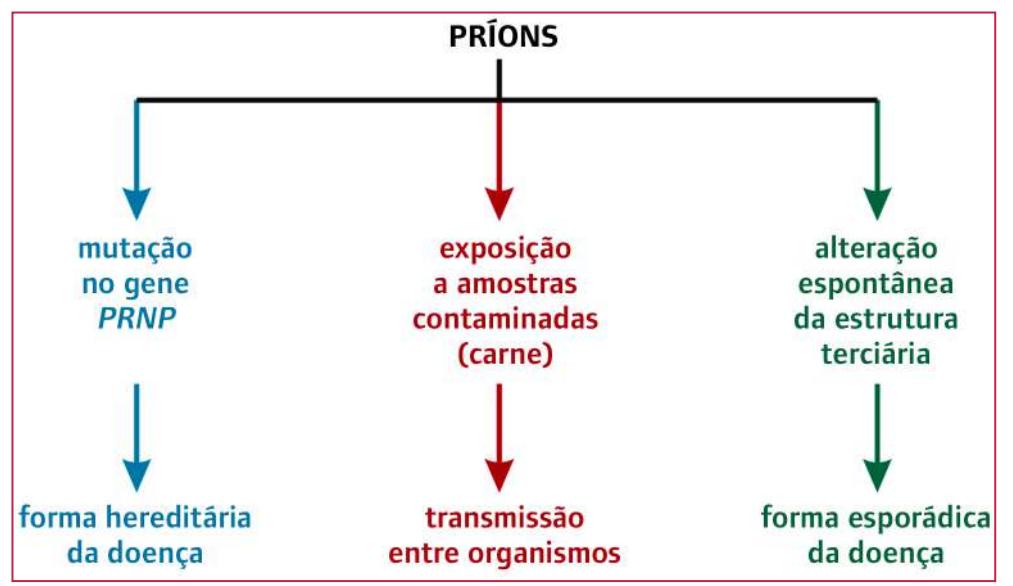


Figura 2.
Os três modos de desenvolvimento das encefalopatias espongiformes transmissíveis. De maneira não convencional, as doenças caracterizadas pelo enovelamento errôneo da proteína prion podem emergir de três maneiras. Mutações no gene *PRNP* podem alterar a sequência de aminoácidos da proteína prion, levando ao dobramento errado da proteína (PrP^{Sc}). Indivíduos sem a mutação também podem apresentar a doença, caso sejam expostos a amostras contaminadas com PrP^{Sc}, ou por meio de um enovelamento errônico espontâneo da proteína prion celular.

CORRELAÇÕES GENÓTIPO-FENÓTIPO

A vasta maioria das mutações identificadas no gene *PRNP* está associada a uma entre as diferentes encefalopatias espongiformes anteriormente elencadas. Por exemplo, indivíduos com CJD apresentam mutações do tipo **VAL180ILE**, **VAL210ILE** e **GLU211GLN**.

Já indivíduos com GSS frequentemente apresentam mutações como **PRO102LEU**, **ALA133VAL** e **GLN227TER**. Aparentemente não há uma relação direta entre mutações em uma determinada região da proteína e uma encefalopatia específica.

Curiosamente, algumas mutações podem estar associadas a mais de uma doença, por exemplo, mutações na região correspondente aos aminoácidos 51 e 91 podem gerar CJD/

GSS. Já mutações do tipo **MET129VAL**, **ASP178ASN** e **GLU200LYS** podem resultar em CJD/FFI. Uma possível explicação para o fato de uma mesma mutação causar doenças distintas (apesar de intimamente relacionadas) deve-se a outros aspectos genéticos e ao ambiente a que cada indivíduo é exposto.

Por fim, algumas mutações conferem proteção a algumas encefalopatias espongiformes. Por exemplo, a mutação **GLY127VAL** confere resistência a Kuru, isto é, indivíduos com tal genótipo não adquirem a doença. Adicionalmente, a deleção completa do gene *PRNP* em animais deixa-os resistentes a encefalopatias. Isso se deve ao fato de que sem a PrP^C, PrP^{Sc}, simplesmente não consegue replicar-se. Assim, estratégias que possibilitem a redução temporária da produção da

VAL180ILE - as mutações aqui indicadas estão representadas de acordo com o seguinte padrão: **VAL180ILE** – o aminoácido Valina na posição 180 da cadeia polipeptídica foi substituído pelo aminoácido Isoleucina. **TER**: códon de terminação.

proteína prion celular poderiam, em tese, funcionar como prevenção/terapia contra encefalopatias espongiformes em animais e humanos. Contudo, não se sabe ainda se essa eventual redução da proteína prion celular poderia trazer algum dano ao paciente.

MÉTODOS DIAGNÓSTICOS DE ENCEFALOPATIAS ESPONGIFORMES TRANSMISSÍVEIS

O diagnóstico de doenças causadas por príons é baseado em vários critérios e envolvem desde testes moleculares para identificação de mutações no gene *PRNP* (sequenciamento, apenas para os casos hereditários), até exames clínicos como eletroencefalografia e ressonância magnética de imagem (mas que são informativos apenas nos estágios avançados da doença).

Detector fluorescente de fibrilas amiloïdes

o detector é uma molécula capaz de se ligar de maneira específica às estruturas tipicamente encontradas nas encefalopatias espongiformes transmissíveis (fibrilas amiloïdes) e emitir um sinal visível (fluorescente).

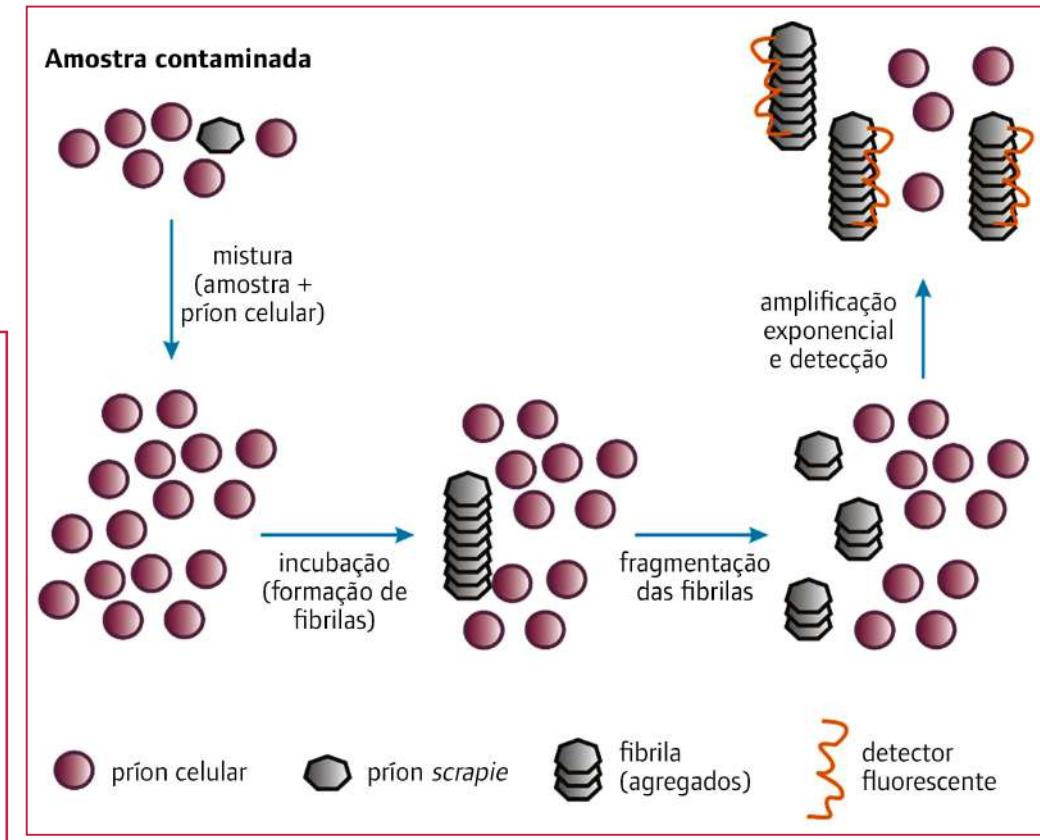
Uma técnica molecular vem se destacando como uma estratégia rápida e eficiente para

detecção de PrP^{Sc} ainda nos estágios precoces da doença, em todas as suas formas (hereditária, transmissível ou espontânea). Trata-se da RT-QuIC (*real time quaking-induced conversion* ou conversão induzida por tremor em tempo real, em tradução livre) [KANG *et al.*, 2017], que visa a mimetizar a amplificação de PrP^{Sc} observada em indivíduos doentes. Essa técnica baseia-se em coletar uma amostra do paciente (e.g., fluido cerebrospinal ou amostras do assoalho olfatório) e misturá-las a PrP^{C} em um tubo de ensaio, passando por ciclos de incubação e agitação. Durante a incubação, as eventuais PrP^{Sc} do paciente convertem a PrP^{C} em PrP^{Sc} , formando agregados fibrilares. Durante a agitação as fibrilas são fragmentadas, aumentando assim em número. Por serem compostas de PrP^{Sc} , estas fibrilas também convertem PrP^{C} em PrP^{Sc} , tornando a amplificação de PrP^{Sc} um processo exponencial. Ao se adicionar um **detector fluorescente de fibrilas amiloïdes**, é possível o acompanhamento da amplificação em tempo real (Figura 3).

Figura 3.

O método RT-QuIC. A detecção de PrP^{Sc} pode ser feita por meio de uma técnica que simula a conversão de PrP^{C} em PrP^{Sc} *in vitro*. Amostras biológicas suspeitas de conterem PrP^{Sc} são misturadas a PrP^{C} em um tubo de ensaio. Os eventuais PrP^{Sc} irão converter PrP^{C} em PrP^{Sc} , formando agregados fibrilares (fibrilas). A fragmentação aumenta o número de fibrilas disponíveis no meio, tornando exponencial o processo de conversão $\text{PrP}^{\text{C}} \rightarrow \text{PrP}^{\text{Sc}}$.

Moléculas fluorescentes capazes de se ligar exclusivamente aos agregados fibrilares permitem a detecção.



CONCLUSÕES

A proteína prion reúne em si um conjunto de propriedades extraordinárias. Prion pode se enovelar como uma proteína celular funcional ou como um patógeno. O produto codificado pelo alelo mutado (PrP^{Sc}) apresenta uma forma de interação alélica sobre a proteína do alelo selvagem (PrP^{C}) denominada *dominância negativa*. Isso é, PrP^{Sc} é não funcional e consegue inibir a ação de PrP^{C} (por convertê-la em PrP^{Sc} e formar agregados). Em conjunto, tais características tornam prion capaz de causar doenças herdáveis, transmissíveis ou esporádicas. No entanto, o mais impressionante talvez se refira ao fato de que esse conceito de “proteína patogênica” não se limite apenas à proteína prion em si, mas a uma diversa gama de outras proteínas

humanas com essas mesmas propriedades: transição de sua forma funcional para formas estruturalmente alternativas, com capacidade de agregação e de alteração do fenótipo. Essas novas “proteínas patogênicas” seriam responsáveis pelas doenças atualmente denominadas *priônicas* (também conhecidas como “Desordens de Enovelamento Incorreto”): Huntington, Alzheimer, Parkinson, Esclerose Lateral Amiotrófica [SUPATTA-PONE, 2015].

Por fim, curiosamente, em leveduras, as proteínas com características priônicas promovem alterações não deletérias (i.e., não causam doenças), mas sim modificações fenotípicas viáveis. Esse fenótipo pode ser transmitido pelas gerações seguintes na ausência de mutações, tornando assim os príons mediadores



Efeitos epigenéticos

- alterações herdáveis e reversíveis no fenótipo que não são mediados por mutações no DNA. Tais efeitos são devidos a mecanismos, como: modificações nas histonas, metilação do DNA e alterações no enovelamento de proteínas (e.g., proteína príon).

de **efeitos epigenéticos**. Por exemplo, na levedura *Saccharomyces cerevisiae* a proteína Sup35p atua como um fator de terminação de tradução, levando o ribossomo a finalizar a tradução quando um códon de parada é encontrado nos RNAs mensageiros. Contudo, Sup35p tem propriedades de príon, podendo apresentar uma estrutura terciária alternativa denominada PSI⁺. Esta, por sua vez, não é funcional, fazendo com que o ribossomo possa ler RNAs mensageiros além do códon de parada, gerando assim proteínas modificadas e alterando o fenótipo da célula. Uma vez que PSI⁺ é naturalmente transmitida para as próximas gerações e é capaz de converter Sup35p em PSI⁺, ela atua como um mediador epigenético. Todos esses novos fatos provavelmente renderão um terceiro

prêmio Nobel referente aos príons e suas impressionantes facetas.

REFERÊNCIAS

SARNATARO, D., PEPE, A., ZURZOLO, C. Cell Biology of Prion Protein Ed LEGNAME, G., VANNI, S. *Prog Mol Biol Transl Sciv.*, p. 57-82, 2017.

BRADLEY, R. An overview of the BSE epidemic in the UK. *Dev Biol Stand*; v. 93, p.65-72, 1998.

KANG, H-E., MO, Y., RAHIM, R. A., LEE, H-M., RYOU, C. Prion Diagnos: Application of Real-Time Quaking-Induced Conversion. *BioMed Res Int* 2017: 5413936 doi: 10.1155/2017/5413936.

SUPATTAPONE, S. Expanding the prion disease repertoire. *Proc Natl Acad Sci USA*. v. 112, n.38, p.11748-9, 2015.

