

# Genética

N A E S C O L A

Revista Genética para a Associação Brasileira de Genética

Ano 1 No. 1

**GENÉTICA E SOCIEDADES  
NOVIDADES PARA A SALA DE AULA  
PONTOS DE VISTA  
HISTÓRIA DA GENÉTICA**

## OS TENTILHÕES DE GALÁPAGOS: O QUE DARWIN NÃO VIU, MAS OS GRANTS VIRAM

Lyria Mori, Cristina Yumi Miyaki e Maria Cristina Arias.

Depto. de Genética e Biologia Evolutiva do Instituto de Biociências da USP

<sup>1</sup> Enviar correspondência para Lyria Mori, Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, Caixa Postal 11.461, 05422-970 São Paulo, SP, Brasil.

E-mail: [lmori@ib.usp.br](mailto:lmori@ib.usp.br); [cymiyaki@ib.usp.br](mailto:cymiyaki@ib.usp.br); [mcarias@ib.usp.br](mailto:mcarias@ib.usp.br).

Palavras-chave: Material didático, Ensino, Seleção Natural, Galápagos.

### RESUMO

*Esta atividade é a simulação do processo de seleção natural observada em aves do gênero *Geospiza*. Os dados reais foram coletados em Galápagos, pelo casal de pesquisadores Rosemary e Peter Grant da Universidade de Princeton (EUA). Estes pesquisadores têm estudado estas aves há mais de 30 anos. Trata-se de uma atividade que pode ser aplicada no ensino médio ou em cursos de graduação em Ciências Biológicas.*

### INTRODUÇÃO

Existe uma tendência geral de se achar impossível o testemunho ocular do processo evolutivo. As pesquisas dos Grants, com os mesmos tentilhões que inspiraram Darwin nas primeiras reflexões sobre a origem das espécies em 1859, mostraram que é possível testemunhar a evolução acontecendo em tempo real.

O Arquipélago de Galápagos é formado por ilhas vulcânicas que emergiram há mais de 2 milhões de anos no Oceano Pacífico. Nessas ilhas há várias espécies endêmicas, entre elas destaca-se um grupo de 13 espécies de fringídeos. Essas aves são popularmente conhecidas como “tentilhões de Darwin”.

O clima de Galápagos flutua bastante, assim como a quantidade e a variedade dos frutos e sementes que são o alimento principal dos tentilhões, resultando na sobrevivência de diferentes fenótipos em diferentes condições. Em geral, os indivíduos maiores são favorecidos em condições de seca (quando só há sementes muito duras), enquanto que os indivíduos menores são favorecidos em condições muito úmidas (quando há abundância de variedades de sementes).

O objetivo da discussão deste trabalho são os dados obtidos com a população de *Geospiza fortis* da ilha de Dafne Menor. Como o número de indivíduos nessa pequena ilha é reduzido, todos são capturados todos os anos, recebem anel com identificação individual e várias medidas morfológicas são tomadas. Entre as descobertas dos Grants, destacam-se três: 1) pequenas variações nas medidas do

bico podem resultar na capacidade ou não de comer determinado tipo de semente; 2) aves com bicos menores gastam mais tempo manipulando sementes duras do que aves com bicos maiores, pois essa manipulação está diretamente correlacionada com a força do bico; 3) as dimensões do bico são herdadas, portanto, pais com bicos grandes produzem filhotes com bicos grandes e vice-versa.

O padrão climático em Galápagos é caracterizado por uma estação quente e úmida de janeiro a maio, seguida de uma estação seca e mais fria. Após as chuvas, a variedade de sementes é grande, desde sementes macias até duras. Quando há fartura de sementes, todas as aves se alimentam principalmente das sementes mais macias, mais fáceis de comer e que acabam primeiro. Em 1977 houve uma seca que perdurou até 1978. Nesse período, as aves com bicos maiores foram mais eficientes para se alimentar e os indivíduos com bicos menores, tiveram aumentadas a taxa de mortalidade e morreram de inanição. Em decorrência dessa situação mais indivíduos com bicos maiores sobreviveram para acasalar e na geração seguinte, o tamanho médio do bico da população aumentou em cerca de 4%. Esse aumento do tamanho do bico foi acompanhado pelo aumento do tamanho corporal.

### OBJETIVO

Simular o que ocorre na natureza em relação à disponibilidade de recursos alimentares e as características morfológicas que possibilitam a utilização destes recursos. Possibilitar a compreensão de que o ambiente determina as direções da seleção.

### FUNÇÃO PEDAGÓGICA

Esta atividade permite que o aluno visualize como a seleção natural pode atuar em uma população, aumentando as chances de sobrevivência de determinados fenótipos. É importante ficar bem claro que fenótipos vantajosos em certas condições ambientais poderão ser desvantajosos em outras situações.

## PREPARANDO A ATIVIDADE

A atividade pode ser usada para reforçar os conceitos de evolução e seleção natural, ou ainda para sensibilizar o aluno antes de introduzir esses conceitos. A duração média da atividade é em torno de 30 minutos, ideal para ser aplicada em grupos com até cinco alunos.

## MATERIAIS (VER FIGURA 1)

- Sementes e/ou frutos de diversos tamanhos, forma e dureza, por exemplo:
  - 5 nozes
  - 10 favas ou amêndoas com casca
  - 25 grãos de milho
  - 35 sementes de girassol
  - 35 grãos de lentilha
  - 35-40 sementes de alpiste
  - 35-40 grãos de painço;
  - Uma bandeja de 30 cm x 20 cm para colocar as sementes;

Para representar os bicos: três prendedores de roupa de diferentes tamanhos, uma pinça de tirar sobralinhas e um pegador grande de alimentos ou pinça grande.



Figura 1. Foto ilustrativa dos materiais utilizados nesta atividade.

## APLICANDO A ATIVIDADE:

1. distribuir uma bandeja contendo as sementes para cada grupo de cinco alunos;
2. cada aluno deverá escolher um instrumento de forma e tamanho diferentes;
3. os alunos deverão coletar as sementes durante 30 segundos utilizando os instrumentos e não as mãos. Cada aluno deverá manter as suas sementes separadamente, e deverá manter separadas as sementes coletadas em cada uma das rodadas de 30 segundos.
4. após cinco rodadas de coleta de 30 segundos, verificar quais sementes foram coletadas e quais sobraram;
5. caso o aluno não tenha conseguido pegar nenhuma semente, ele não poderá participar da rodada seguinte;

6. ao final, faz-se um levantamento dos tamanhos e quantidades das sementes coletadas por cada tipo de “bico” em cada rodada.

Observação: O grupo de alunos pode repetir essa mesma atividade a partir de uma bandeja com uma quantidade três

vezes maior de cada tipo de semente, representando mudança nas condições ambientais, e disponibilidade maior de recursos.

## ENTENDENDO A ATIVIDADE

1. O que representa cada uma das ferramentas utilizadas para coletar sementes?
2. O que representa a bandeja com sementes?
3. O que representa cada rodada de coleta de sementes?
4. O que representa a eliminação dos indivíduos que não conseguem coletar sementes em uma rodada?

## RESPOSTAS PARA A SEÇÃO “ENTENDENDO A ATIVIDADE”

1. Cada ferramenta, pinças e prendedores, representam um tipo de bico.
2. A bandeja com sementes representa a variedade e quantidade de sementes disponíveis numa ilha, por exemplo.
3. Cada rodada de coleta pode representar o período de um ano, ou uma geração das aves.
4. A eliminação dos indivíduos que não conseguem coletar sementes representa a morte das aves que não se alimentaram durante aquele ano e, portanto, não deixam descendentes.

## CORRELAÇÕES DE CONCEITOS

1. Partindo da premissa de que as características anatômicas como forma e tamanho do bico são hereditárias, fazer uma previsão do que acontecerá em época de escassez de alimento.
2. 1983 foi um ano de chuvas abundantes, a ilha de Dafne ficou coberta de vegetação e a produção de sementes foi enorme. O que poderá ser previsto em relação ao tamanho dos bicos dos tentilhões?
3. Estabelecer a definição de seleção natural.

## RESPOSTAS PARA AS QUESTÕES DA SEÇÃO “CORRELAÇÕES DE CONCEITOS”

1. Em caso de escassez de sementes e relativa abundância de sementes maiores, os indivíduos com bicos maiores conseguem coletar uma variedade maior de sementes, aumentando assim suas chances de sobrevivência e de produção de descendentes. Em outras palavras, há uma vantagem adaptativa dos indivíduos com bicos maiores em

relação àqueles com bicos menores. Assumindo-se que o tamanho do bico seja uma característica hereditária e caso as condições continuem as mesmas haverá uma tendência de aumento na frequência de indivíduos com bicos maiores ao longo das gerações.

2. A abundância de sementes e a sua variedade devem oferecer condições de boa alimentação tanto para os indivíduos com bicos grandes como pequenos, condições que foram simuladas quando se fez a atividade com uma quantidade três vezes maior de sementes de cada um dos tipos. A seleção não irá agir contra qualquer indivíduo, o que levará a uma população com maior variabilidade nos tamanhos de bico.

3. A seleção natural é o mecanismo pelo qual ocorre a evolução. As características sofrem variações entre os indivíduos de uma população, essas variações influem nas chances de sobrevivência dos organismos e na capacidade de deixar descendentes. No caso de variações herdáveis, com o tempo, os organismos com características mais vantajosas tendem a tornar-se mais frequentes.

## **AGRADECIMENTOS**

À Profa. Dra. Eliana M. B. Dessen pela leitura crítica e sugestões. Ao Prof. Dr. Paulo T. Sano pelo auxílio na ilustração.

## **BIBLIOGRAFIA**

Grant, P. R. & Grant, B. R. 1995. Predicting microevolutionary responses to directional selection on heritable variation. *Evolution* 49: 241-251.

Grant, P. R. & Grant, B. R. 2000. Non-random fitness variation in two populations of Darwin's finches. *Proc. R. Soc. Lond. B* 267: 131-138.

Grant, P. R. & Grant, B. R. 2002. Unpredictable evolution in a 30-year study of Darwin's finches. *Science* 296: 707-711.

Greenwood, J. J. D. 1993. Theory fits the bill in the Galápagos Islands. *Nature* 362: 699.

Weiner, J. 1995. "O Bico do Tentilhão – Uma História da Evolução no Nosso Tempo". Editora Rocco, Rio de Janeiro.

## Gripe aviária: Seguindo as pegadas de um novo vírus

Eliana M. B. Dessen

*Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. Rua do Matão 277, 05508-090 São Paulo. Email: [embdesse@ib.usp.br](mailto:embdesse@ib.usp.br)*

Palavras-chave: gripe aviária, vírus influenza, H5N1

Nos últimos meses, a gripe aviária tem sido foco de atenção do sistema mundial de vigilância sanitária e de doenças. Numa verdadeira corrida contra o tempo, cientistas de várias partes do mundo procuram entender a evolução do vírus influenza, a maneira como ele consegue transpor a barreira das espécies que infectam e o mecanismo que torna algumas linhagens mais patogênicas do que outras. Por que tanta mobilização e apreensão? Afinal, a gripe não é uma doença sem gravidade?

### O vírus influenza A: epidemias e pandemias de gripe

Atualmente, há três vírus com o nome influenza: A, B e C – e todos causam doenças respiratórias. O vírus influenza A é aquele que causa a doença mais significativa do ponto de vista clínico. Além disso, ele pode causar epidemias e infectar o mesmo hospedeiro mais do que uma vez durante sua vida.

Doenças virais são geralmente endêmicas (existem constantemente em determinado lugar e atacam um número variável de indivíduos), com flutuações periódicas de intensidade em resposta a eventos ecológicos e à dinâmica das populações. O vírus influenza A apresenta dois padrões atípicos de flutuação. Em um deles, o vírus alastra-se anualmente por localidades geográficas definidas: aparece de modo súbito atingindo ao mesmo tempo um grande número de pessoas, persiste por algumas semanas e desaparece rapidamente, caracterizando uma epidemia. No outro padrão, que ocorre em intervalos de alguns anos, o vírus propaga-se pelo mundo todo originando uma pandemia, isto é, um surto mundial da forma mais virulenta da doença. Comumente a infecção por influenza A começa na Ásia, move-se para a Rússia, Europa, e dali para as Américas. As pandemias podem resultar em alto índice de mortalidade.

A resposta do organismo humano à infecção viral ocorre pela mobilização do sistema imune, que fabrica anticorpos específicos cuja função é inativar as partículas virais. Paralelamente, as células T killer destroem as células infectadas. Desse modo, o indivíduo infectado se recupera da doença e fica imunizado pelo resto de sua vida. Isso previne a reinfeção e, ao mesmo tempo, limita severamente

o número de hospedeiros disponíveis ao vírus. Os vírus que possuem mutações que os tornam menos agressivos ou menos virulentos, terão maior probabilidade de expansão, contaminando maior número de hospedeiros, uma vez que têm um efeito letal menor. Vírus que enganam o sistema imune também têm maior probabilidade de se expandir porque têm a possibilidade de infectar maior número de pessoas. Isso significa que, ao longo das gerações dos vírus, ocorre uma seleção que favorece os vírus atenuados e os que enganam o sistema imune.

Como todo vírus de RNA, a taxa de mutações de ponto durante a multiplicação é alta. Algumas dessas mutações ocorrem em genes que codificam proteínas estruturais tornando-as ligeiramente diferentes, o que as torna suficientemente diferenciadas para não serem mais completamente reconhecidas pela memória do sistema imune do hospedeiro. Se o sistema imune não tem memória de uma infecção passada, cada infecção funciona como uma nova exposição. Desse modo, o vírus pode ter múltiplos acessos a um mesmo hospedeiro. Esse processo, antígeno drift, é responsável pelas epidemias locais.

Um mecanismo bem diferente ocorre quando um vírus influenza A pandêmico espalha-se pelo mundo todo. Para que isso ocorra é necessária uma mudança mais drástica das proteínas virais. Nesse caso, um ou mais de seus genes são substituídos, ou rearranjados, produzindo uma proteína com o qual o sistema imune nunca entrou em contato. Essa mudança radical, antígeno shift, produz um vírus que ainda é Influenza A, mas com um ou mais genes provenientes de uma outra linhagem viral, em outras palavras, um vírus que não estava em circulação na população humana.

O rearranjo ou mistura gênica corresponde à mistura de, por exemplo, genes de um vírus que infecta seres humanos com genes de vírus de aves. Para que a mistura ocorra, os vírus têm que infectar ao mesmo tempo o mesmo animal. O porco funciona como um vaso de mistura, pois suas células têm moléculas de superfície que permitem a entrada de ambos os tipos virais. Por exemplo, um porco pode ser atacado pelo vírus influenza humano de um fazendeiro gripado e, ao mesmo tempo, pelos vírus de uma ave com gripe – os patos da mesma fazenda. As moléculas de RNA dos dois tipos de vírus podem então ser

“rearranjadas“, criando um híbrido radicalmente novo que, se tiver a capacidade de infectar humanos, não será reconhecido pelo sistema imune. Além disso, o híbrido pode ser mais virulento que o normal.

O rearranjo gênico explica duas das pandemias de gripe do século XX: as de 1957 e 1968. Em cada uma delas, um novo subtipo de vírus apareceu por combinação dos genes de vírus humanos, que vinham causando gripes leves em anos anteriores, com novos genes de vírus de aves. Os novos vírus pandêmicos se disseminaram e correram pelo mundo, matando, juntos, cerca de 2 milhões de pessoas.

A formação de novas linhagens pandêmicas continuará a ser feita desde que haja uma fonte de genes virais que não tenha tido contato prévio com o hospedeiro humano. Na natureza, as aves são o reservatório natural do vírus influenza A.

Novos subtipos de vírus podem também ser formados quando o vírus influenza adquire a capacidade de transpor a barreira das espécies. Por exemplo, um vírus que normalmente infecta aves, pode passar a ser diretamente transmitido para os seres humanos. Estudos recentes indicam que isso ocorreu no caso da maior pandemia de gripe, a chamada gripe espanhola (1917-1918), quando pelo menos 20 milhões de pessoas morreram em todo o mundo. O vírus de 1918 não derivou de um vírus humano que estava em circulação, mas sim de um vírus aviário adaptado para infectar a espécie humana. Evidências nesse sentido foram provenientes de estudos do seqüenciamento do genoma do vírus influenza da pandemia de 1918, recém ressuscitado. Os vírus foram obtidos a partir de fragmentos de pulmões dos doentes conservados em parafina ou de vítimas que foram enterradas em solo permanentemente congelado (Taubenberger et al., 2005). O genoma do vírus foi seqüenciado, os genes foram sintetizados em laboratório e partículas virais reconstituídas em cultura de células. Um pequeno número de mudanças na seqüência de aminoácidos das polimerases virais deve ter sido crucial para o processo de adaptação do vírus de ave à espécie humana (Tumpey et al., 2005).

Atualmente, o vírus aviário H5N1 está fazendo o mesmo (a denominação refere-se às formas das proteínas estruturais do vírus: Hemaglutinina do tipo 5 e a enzima Neurominidase do tipo 1). O número de mortes humanas está na casa de dezenas (96, até março de 2006) e não de milhões porque os mecanismos de transmissão entre espécies ainda não foram totalmente desenvolvidos pelo vírus. Ainda não foram confirmados casos de contaminação de humanos para humanos por esse vírus.

Outro aspecto importante a ser esclarecido é o mecanismo que pode tornar uma linhagem viral altamente patogênica. Pesquisadores do St Jude Children’s Research Hospital acumularam nos últimos 30 anos um banco com 7000 seqüências de genomas (parciais ou completas) de vírus influenza provenientes de patos, gaivotas, aves domésticas e outras aves ao redor do mundo. A comparação das seqüências permitiu o encontro de diferenças-chave entre as formas mais virulentas e as mais brandas (Obenauer et al., 2006). Amostras do vírus H5N1, responsável pela morte de seres humanos na Ásia entre 1997 e 2004,

apresentam uma de suas proteínas, a NS1 (proteína não estrutural presente apenas na célula infectada), com a conformação “ave”, ou seja, semelhante à da proteína NS1 do vírus que infecta as aves. A linhagem viral que causou a pandemia de 1918 também apresenta a conformação “ave” da proteína NS1. Por outro lado, a forma “humana”, menos patogênica, está presente nas linhagens virais causadoras das pandemias de 1957 e 1968. Estudos funcionais mostraram que a patogenicidade do vírus talvez esteja relacionada à capacidade da proteína NS1 “ave” ligar-se a cerca de 30 proteínas humanas, enquanto a forma “humana” interage com um número bem menor (Obenauer et al., 2006). As pesquisas anteriores sobre virulência estavam centradas nas proteínas Hemaglutinina (H) e Neurominidase (N) presentes na superfície viral, que sabidamente variam nas diferentes linhagens de influenza.

Embora as pesquisas mais recentes tenham apresentado resultados esclarecedores com relação ao encontro de marcadores de virulência para seres humanos, uma pergunta ainda permanece sem resposta: o vírus H5N1 vai adquirir a capacidade de ser facilmente transmitido entre pessoas? Talvez isso nunca aconteça, mas, especialistas estão insistindo para que o mundo se prepare para o pior.

## A evolução do H5N1

Uma grande variedade de vírus H5N1 tornou-se largamente difundida em populações endêmicas de patos domésticos na costa e em partes do sudeste da China e, em seguida, invadiu progressivamente aves domésticas terrestres. Logo após foram detectados casos de infecção em gatos domésticos, tigres e em seres humanos, no Vietnã e Tailândia. Atualmente, acredita-se que um ciclo de transmissão endêmica de pato para pato se estabeleceu na China, Vietnã e Tailândia. Frequentemente, ocorre transmissão de pato para galinha e de galinha para galinha e, particularmente, a transferência do vírus de patos para galinhas é a maior preocupação porque ela está provavelmente associada ao aumento da patogenicidade e risco aumentado do vírus manifestar-se em espécies de mamíferos.

Uma análise em larga escala do H5N1 confirmou que, há mais de uma década, ele está presente em aves domésticas da China. Cerca de 2% de patos e gansos aparentemente são portadores do vírus. Mais importante, os genes do vírus formaram agrupamentos geográficos que diferem levemente entre diferentes províncias chinesas, sugerindo que ele deve estar circulando há tempo suficiente para ter evoluído em linhagens diferentes. Porém, todos eles descendem do vírus da infecção de Guangdong, China, de 1996. Outro fato importante é que anticorpos de cada sub linhagem do H5N1 não se ligam prontamente aos de outras linhagens. Isso significa que vacinar pessoas ou aves contra uma linhagem pode não proteger contra outras.

O rastreamento das mudanças genéticas que o vírus influenza apresenta nos animais, que são seus reservatórios naturais, é vital para que previsões sobre possíveis

pandemias humanas sejam realizadas com tempo hábil para a tomada de decisões adequadas. Entretanto, a crise instalada pelo aparecimento e disseminação do vírus H5N1 evidencia que o sistema de vigilância mundial da gripe precisa ser repensado. Um dos problemas é a falta de colaboração para um estudo mais abrangente das amostras virais coletadas em vítimas humanas ou de animais domésticos e selvagens. Muitos países não querem compartilhar amostras com outros laboratórios com medo de perder o controle sobre a informação. Além disso, os governos não querem estrangeiros fazendo declarações sobre os problemas que ocorrem em seus países e os cientistas preferem pesquisar as amostras sem compartilhar informações para ganhar créditos sobre seus trabalhos e terem a oportunidade de criar a própria vacina.

A facilidade e rapidez da expansão da infecção viral estão também associadas a outros fatores de difícil controle como: hábitos culturais locais, possibilidade de disseminação por meio de aves migratórias ou pelas facilidades de transporte entre as mais remotas localidades do mundo. Por exemplo, na Ásia, os patos são importantes no manejo das pragas das plantações de arroz. Bandos de patos são transferidos para diferentes campos de cultivo de arroz para que possam se alimentar dos milhares de insetos nelas presentes e dos grãos caídos pelo processo de colheita. Desse modo, os bandos desses animais são mantidos praticamente sem gasto algum, além de auxiliar no controle de pragas das plantações e, após alguns meses, o bando está pronto para comercialização ou consumo. A mobilidade de tais bandos, entretanto, é um excelente veículo de disseminação do vírus. Há, por outro lado, um conjunto de circunstâncias que encorajam o estabelecimento da infecção viral em populações de patos em regiões de lagos. A interação entre patos e aves selvagens migratórias na Ásia permite o espalhamento da infecção para todos os potenciais nichos ecológicos. É cada vez maior o número de cientistas que atribuem o rápido espalhamento do vírus às aves migratórias. Todos os vírus encontrados na Sibéria e Europa até o momento são geneticamente muito semelhantes ao H5N1 encontrado em pássaros selvagens no Lago Qinghai, na China, na primavera de 2005.

Ainda não está completamente claro, entretanto, se as aves migratórias realmente constituem a rápida via de transmissão do vírus entre locais muito distantes. A morte de aves domésticas por uma mesma linhagem viral em localidades muito distantes não diz nada a respeito do modo como o vírus foi transferido. Muitos cientistas acreditam que a rota de transmissão do vírus da Ásia para a Europa tenha acontecido através das linhas ferroviárias importantes que conectam a China ao Cazaquistão, Rússia e leste da Europa. Assim, há cientistas que consideram as aves migratórias como vítimas, ou seja, elas estariam sendo atingidas pelos vírus presentes em aves domésticas infectadas. Um estudo recente (Obenauer et al., 2006), que analisa 13.000 amostras de vírus, sugere que o comércio e a movimentação de aves domésticas foram o principal fator responsável pelos repetidos surtos de espalhamento de vírus para fora de seu berço de origem no sudeste da China e também pela diversidade genética do mesmo.

## **A gripe nas Aves**

Ao contrário dos mamíferos, que têm as vias respiratórias como alvo de infecção do vírus influenza, as aves selvagens ao redor do mundo carregam esses vírus em seus intestinos e geralmente não ficam doentes. Entretanto, linhagens patogênicas do vírus propagam-se muito rapidamente em bandos de aves domésticas. Nessas aves causam doença que afeta os órgãos internos, com taxa de mortalidade de 90 a 100%, em 48 horas. As aves domésticas abrigam vírus na saliva, secreções nasais e fezes. Tais aves podem se contaminar quando entram em contato direto com aves selvagens infectadas ou com água e ou alimento contaminados com vírus. A infecção com a forma viral de “baixa patogenicidade” causa sintomas muito leves da doença e, assim sendo, os vírus podem não ser detectados. Esse é um sério problema para uma estratégia de erradicação do H5N1.

A maioria dos casos de gripe aviária em seres humanos resultou do contato direto com aves domésticas infectadas.

O atual surto de gripe aviária foi facilitado pela explosiva produção de carne de aves, especialmente galinhas, na Ásia. Há inúmeras fazendas abarrotadas com bilhões de galinhas, que são focos de risco, propícios à propagação de um vírus. As campanhas de extermínio em larga escala não surtiram efeito para erradicar o H5N1. Isso ocorreu principalmente em países pobres, como a Indonésia, porque os produtores não foram financeiramente recompensados pelos animais sacrificados.

Alguns países como a China, por exemplo, aplicaram vacinas nas aves, mas elas nem sempre são eficazes quando há baixo nível de infecção, permitindo, dessa forma, que o vírus se espalhe sem que haja nenhuma mortandade evidente das aves.

## **Vigilância contra a gripe aviária**

Na ocorrência de uma pandemia de gripe aviária, o uso profilático de antivirais é uma opção para alguns países com capacidade de compra e armazenamento. Entretanto, a produção atual dos antivirais oseltamivir e zanamivir (com nomes comerciais, respectivamente, Tamiflu e Relenza), que se mostraram eficientes contra o H5N1, é muito limitada. Não há medicamento suficiente para proteger uma fração significativa da população durante meses.

Uma opção alternativa de prevenção da gripe aviária é feita por meio da vacinação de seres humanos. O grande problema dessa opção é que antes que a epidemia de gripe realmente comece, não se sabe exatamente qual poderá ser a forma que a linhagem de vírus terá. Assim, não é possível construir de antemão uma vacina perfeita. Outra dificuldade reside na baixa capacidade mundial de produção de vacinas. Mesmo que a vacina fosse produzida por todos os países com condições para isso, ela seria suficiente apenas para 14% da população mundial.

O Instituto Butantã, em São Paulo, é um dos seis laboratórios selecionados pela Organização Mundial de Saúde (OMS) – e o único do hemisfério sul – para



desenvolver o produto. A produção deve começar ainda esse ano e a meta é que sejam produzidas, inicialmente, 20 milhões de doses.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) divulgou um cronograma de ação para evitar a entrada do H5N1 no Brasil, pelo menos por meio dos aeroportos. Em breve, será instituída a Declaração Única do Viajante, um registro cadastral para quem chegar de lugares onde as infecções ocorrem.

O Ministério da Agricultura instalou postos de monitoramento nas regiões por onde as aves migratórias costumam entrar no país e o Ministério da Saúde montou uma rede de 66 pontos de detecção, espalhados em 20 Estados e Distrito Federal. As chamadas Unidades Sentinela são hospitais, postos de saúde e policlínicas que recebem treinamento, equipamentos de informática, de refrigeração e kits para a coleta de amostras. O trabalho dessas unidades é recolher secreções do nariz e da faringe de pessoas que tenham sintomas de gripe, com o objetivo de verificar quais vírus estão presentes naquela região e orientar a aplicação de vacinas e a distribuição de remédios.

Muitas das pegadas deixadas pelo vírus H5N1 em suas vítimas foram seguidas e auxiliaram no esclarecimento de seu mecanismo de ação e propagação. Os cientistas continuam no encalço desse vírus. Porém, o principal problema continua sem resposta: o H5N1 causará uma pandemia de gripe?

## Bibliografia

Abbott, A. and Pearson, H. (2006) Army of bird flu viruses decoded. *Nature* (published on line) doi:10.1038/news060123-11.

Appenzeller, T., (2005) Tracking the next killer flu. *National Geographic* 208(4):2-31.

Butler, D. (2006) Disease surveillance needs a revolution – Bird flu has highlighted serious deficiencies in epidemiology. *Nature* (published on line) 440: 6-7, doi:10.1038/44006a.

Butler, D. (2005) “Refusal to share” leaves agency struggling to monitor bird flu. *Nature* (published on line) doi:10.1038/435131a.

Check, E (2005) Is this our best shot? *Nature* 435: 404-406.

Chen, H., Smith, G.J.D., Zhang, S.Y., Qin, K., Wang, J., Li, K.S., Webster, R.G., Peiris, J.S.M. and Guan, Y. (2005) H5N1 virus outbreak in migratory waterfowl. *Nature* 436:191.

Ghedini E, Sengamalay NA, Shumway M, Zabor-sky J, Feldblyum T, Subbu V, Spiro DJ, Sitz J, Koo H, Bolotov P, Dernovoy D, Tatusova T, Bao Y, St George K, Taylor J, Lipman DJ, Fraser CM, Taubenberger JK, Salz-berg SL. (2005) Large-scale sequencing of human influenza

reveals the dynamic nature of viral genome evolution. *Nature*. 437:1162-6.

Krug, R.M. (2006) Clues to the virulence of H5N1 viruses in humans. *Science* 311:1562-1563.

Obenauer JC, Denson J, Mehta PK, Su X, Mukatira S, Finkelstein DB, Xu X, Wang J, Ma J, Fan Y, Rakestraw KM, Webster RG, Hoffmann E, Krauss S, Zheng J, Zhang Z, Naeve CW. (2006) Large-scale sequence analysis of avian influenza isolates. *Science*. 311:1576-80.

Patterson, M.M. (2005) The coming Influenza Pan-demic: lessons from the past for the future. *Jaoa* 105(11): 498-500.

Taubenberger, J.K. et al (2005) Characterization of the 1918 influenza virus polymerase genes. *Nature* 437: 889-93.

Tumpey TM, Garcia-Sastre A, Taubenberger JK, Palese P, Swayne DE, Pantin-Jackwood MJ, Schultz-Cherry S, Solorzano A, Van Rooijen N, Katz JM, Basler CF. (2005) Pathogenicity of influenza viruses with genes from the 1918 pandemic virus: functional roles of alveolar. *J Virol*. 79(23):14933-44.

Webster, R.G., (2002) The importance of animal influenza for human disease. *Vaccine* 20 S16-S20.

Webster, R.G., Peiris, M., Chen, H. and Guan, Y., (2006) H5N1 outbreaks and Enzootic influenza. *Emerging Infections Diseases* – www.cdc.gov/eid vol 12(1): 3-8.

### Web sites:

<http://www.cdc.gov/flu/avian/index.htm> (Center for Disease Control and Prevention)

<http://www.fda.gov/> (American Food and Drug Administration)

[http://www.who.int/csr/diseas/avian\\_influenza.en/index.html](http://www.who.int/csr/diseas/avian_influenza.en/index.html) (World Organization for Animal Health)

<http://www.fao.org/ag/againfo/subjects/en/health/diseases-cards/avian.html> (Animal Health Special Report)

<http://www.geis.fhp.osd.mil/> - US Department of Defense

<http://www.nature.com/nature/focus/avianflu/index.html>





## Projeto Micro & Gene

Coordenadora Geral: Eliana M. B. Dessen<sup>1\*</sup>

Equipe: Lyria Mori<sup>1</sup>, Maria Augusta Querubim<sup>1</sup>, Maria Cristina Arias<sup>1</sup>, Maria Ligia Coutinho Carvalhal<sup>2</sup>, Cristina Yumi Miyaki<sup>1</sup>, José Mariano Amabis<sup>1</sup>, Solange Soares de Camargo<sup>1</sup>, Rodrigo Venturoso Mendes da Silveira<sup>1</sup> e Jorge Oyakawa<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo.

<sup>2</sup> Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.

\* Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, Rua do Matão 277, São Paulo, SP, 05508-090. E-mail: embdesse@ib.usp.br

Palavras-chave: material didático, atividade lúdica, ensino de genética, ensino de microbiologia.

O Projeto Micro & Gene nasceu a partir de diversas participações dos membros da equipe na atividade “Genética na Praça” durante os congressos da Sociedade Brasileira de Genética. São objetivos do projeto Micro & Gene: (1) desenvolver, produzir, divulgar e disponibilizar para empréstimo materiais didáticos facilitadores da aprendizagem com significado, das áreas de microbiologia, genética e evolução; (2) auxiliar professores dos ensinamentos fundamental e médio na reprodução de tais materiais ou na utilização das atividades didáticas; (3) capacitar professores para a aplicação dos referidos materiais didáticos; (5) desenvolver processos de avaliação relacionados ao desenvolvimento dos materiais e à efetividade de sua aplicação em sala de aula.

Todas as atividades didáticas apresentadas por membros da equipe na “Genética na Praça” foram posteriormente aplicadas em outros eventos com variados tipos de público. Tal procedimento foi muito importante para o aperfeiçoamento de todo o material produzido, além de evidenciar que as atividades didáticas foram efetivas na sensibilização de públicos diferentes, dependendo apenas de pequenas adaptações no momento da aplicação.

Subvencionados pela Pró-Reitoria de Graduação da USP foi construído um conjunto de kits didáticos sobre os temas a seguir: Ponto crítico: um jogo do tipo detetive; Simulando o sequenciamento de DNA; A Família Silva e seus genes; Filho de scoiso, scoisinho é!; Classificando Periquitos; Classificando Drosófilas; Meiose e as leis de Mendel; Biota: o jogo da biodiversidade; Classificando Abelhas.

O material que compõe cada um dos kits é suficiente para ser aplicado em uma classe com cerca de 40 alunos, divididos em grupos de oito. Cada kit é acompanhado por um “Manual do Professor” contendo sugestões para a condução da atividade em sala de aula, um resumo dos conceitos biológicos necessários para sua aplicação, e ainda exercícios, perguntas ou situações para serem discutidas após a realização da atividade. Os kits contêm também livretos com os procedimentos que deverão ser realizados pelos alunos.

Atualmente os materiais didáticos estão disponíveis para empréstimo mediante preenchimento de um formulário encontrado no endereço <[www.ib.usp/microgene](http://www.ib.usp/microgene)>. Nesse endereço também é possível fazer o download de arquivos contendo o material didático completo das atividades para ser produzido pelo usuário. Além disso, algumas das atividades podem ser realizadas on line. Também há bibliografia relacionada ao Ensino de Biologia.

Visite nosso site!

## Conceitos errôneos de Genética em livros didáticos do ensino médio

Vilas-Boas, Adlane

*Laboratório de Genética de Microrganismos. Instituto de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Minas Gerais. Av. Antonio Carlos 6627. Belo Horizonte – Minas Gerais . CEP 31270-901. E-mail: adlane@ufmg.br*

Os grandes avanços científicos que ocorreram recentemente na área de Biologia, especialmente na Genética, geraram um volume muito grande de novas informações e de conhecimentos mais complexos nesta área. A publicação destas novas concepções e descobertas nem sempre tem sido feita de modo claro e correto na edição de livros didáticos destinados ao ensino médio no Brasil e, além disto, muitas outras publicações não atualizaram estas informações. Os primeiros Guias de Livros Didáticos, que surgiram a partir do Plano Nacional do Livro Didático (Brasil, 1997, 1998), promoveram um avanço na qualidade de livros do ensino fundamental. No entanto, apenas livros de Matemática e Português do ensino médio passaram por uma análise do Programa Nacional do Livro para o Ensino Médio -PNLEM (Brasil, 2005).

Dentre nossos alunos recém-saídos do ensino médio, cursando a disciplina básica (troquei a posição do adjetivo já que existem mais de um nome para esse tipo de disciplina) de Genética, notamos uma certa frequência de conflitos entre os conceitos abordados em sala de aula e os mesmos conceitos aprendidos anteriormente. Isto nos levou à suspeita de que erros conceituais em assuntos já consolidados poderiam ser comuns em seus livros didáticos do ensino médio. Em decorrência dessas abordagens cheias de possíveis erros, certos conceitos e mecanismos genéticos poderiam estar sendo erroneamente fixados de modo permanente. Se o aluno seguir alguma carreira na área biológica, isto ainda poderá ser reparado através de um trabalho diferenciado por parte dos professores. Porém, se os alunos forem para outras áreas do conhecimento, estes conceitos errados permanecerão. Assim, a partir da identificação deste problema propusemos a uma turma de Genética Geral do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da UFMG que pesquisasse diversos livros de ensino médio e analisasse o seu conteúdo de Genética, em especial a parte de Genética Molecular, de acordo com os recentes conhecimentos adquiridos na disciplina.

A escolha dos livros para esta análise seguiu o critério da disponibilidade dos mesmos, isto é, livros adquiridos anteriormente pelos alunos e/ou os disponíveis na biblioteca (publicados entre 1995 e 2002). A turma de alunos foi dividida em grupos e cinco diferentes livros foram analisados, dentre os quais alguns bastante utilizados

em todo o Brasil. Para não identificar os autores de cada livro, usamos um código de letras para nomeá-los. A análise apresentada não pretende ser completa mas, sim, servir como um alerta para docentes e como um indicativo de que é preciso repensar o ensino de Genética no ensino médio. Além disso, deverá servir para que os docentes fiquem atentos ao conteúdo das publicações de livros didáticos. O número de erros relatados variou de grupo para grupo. Outros erros foram apontados pela professora da disciplina, portanto, o comentário abaixo de cada erro não é apenas de autoria dos alunos. Os erros foram checados e compilados, e são apresentados a seguir.

### Livro A – Publicado em 1995

1. “Os homólogos são idênticos quanto à sua forma, seu tamanho e o tipo e seqüência de genes.”

É importante apontar que os cromossomos homólogos são muito parecidos, mas convém ressaltar que pequenas mudanças na seqüência do DNA existem, e isso é exatamente o que traz a variabilidade genética.

2. “A autoduplicação é uma propriedade fundamental do gene.”

A confusão que os alunos trazem quanto à sinonímia de gene e DNA pode ficar exacerbada com esta afirmação já que a duplicação é propriedade fundamental do DNA e não do gene propriamente dito. Além disso, o termo autoduplicação pode dar uma idéia de que o processo independa de enzimas e outros componentes da maquinaria.

3. Nas ilustrações, o sítio operador do Operon Lac é mostrado como gene operador.

Apesar de o operador ter sido chamado de gene por Jacob e Monod, a terminologia dificulta a compreensão do conceito de gene. Um outro ponto aqui é se é apropriado aprofundar a regulação gênica neste nível para incluir detalhes da regulação em procariotos para estudantes do ensino médio.

### Livro B – publicado em 1996

1. Em uma figura sobre genes ligados: “A segunda lei de Mendel não é válida”.

Neste capítulo, que lida com ligação, não se inclui a idéia de que genes em braços diferentes ou muito distantes

no mesmo braço podem agir como se estivessem se segregando independentemente.

2. “...e os genes que ocupam o mesmo locus em cromossomos homólogos são denominados genes alelos”.

A nomenclatura de alelos como “genes alelos” aparece em diversos livros citados aqui. É possível que originalmente o termo tenha sido incorretamente traduzido do inglês “gene alleles” no qual allele é um substantivo e gene, um adjetivo ou indicativo de posse (alelos gênicos ou alelos do gene).

#### Livro C – publicado em 1998

1. “Na duplicação, nucleotídeos livres unem-se às bases de cada cadeia à medida que elas se desemparelham de suas parceiras, respeitando a regra de emparelhamento.”

Aqui os alunos podem entender que os nucleotídeos participam de um processo em que eles é que estabelecem o processo de duplicação. Pode ser importante a noção de que este é um mecanismo complexo que faz parte da duplicação celular.

#### Livro D - publicado em 1998

1. “Os genes são formados por proteínas e moléculas de DNA. Como as moléculas de DNA são muito longas, elas são divididas em segmentos ou setores. Cada setor corresponde a um gene.”

Neste caso, não só o conceito de gene mas também o conceito da organização do genoma estão incorretos, já que nem toda suposta subdivisão do DNA vai corresponder a um gene.

2. “Ao longo das moléculas de DNA (...) os cientistas evidenciaram segmentos bem definidos nas cadeias de nucleotídeos que são verdadeiramente atuantes na produção de RNA e, conseqüentemente, na síntese de proteínas. Ao mesmo tempo, detectaram outros segmentos que são perfeitamente inativos para tais funções. Os segmentos ativos são chamados éxons; os inativos são os íntrons.”

O processo de transcrição e processamento de RNA em eucariotos não é facilmente entendido principalmente pela dificuldade que alguns alunos têm em pensar nos íntrons como sendo parte do transcrito. O conceito correto de íntron é essencial para o ensino sobre splicing alternativo no ensino superior.

3. “Como agem as enzimas de restrição: ‘picotando’ a molécula de DNA nos limites de um éxon para um íntron”.

Esta é uma legenda de uma figura que mostra os supostos limites de um éxon com dois íntrons como local de ação das endonucleases de restrição. Além disso, no texto informa-se que dinucleotídeos são alvos das enzimas, e os sítios palindrômicos não são mencionados.

#### Livro E – publicado em 2002

1. Com relação à síntese de RNA é dito que “Aí, apenas um dos filamentos é usado para a síntese do RNAm.”

A possibilidade de transcrição nos dois sentidos e nas duas fitas é dificilmente compreendida pelo aluno do curso superior. O texto e os desenhos mostrando uma parte da transcrição, em geral, mostram apenas uma parte do DNA com o respectivo RNAm sendo copiado e nenhuma ênfase é colocada no fato de haver uma região no DNA que comanda o local a partir de onde vai ser iniciada a transcrição.

2. “Gen: é um fator hereditário constituído por um segmento de DNA. Atua como fundamento para o desenvolvimento de uma característica através da informação que contém, para a síntese de uma determinada proteína.”

Este conceito de gene é muito restrito, como se ele só codificasse para proteínas e transcrevesse apenas mRNAs. Este erro ocorreu na maioria dos livros e um conceito mais abrangente foi encontrado em apenas dois livros (que não constam da lista acima).

O desafio para quem escreve um livro didático é transformar um assunto complexo em simples e atraente, sem perder a veracidade do conteúdo. A Genética, principalmente a Genética Molecular, é uma área de pesquisas que se desenvolve muito rapidamente e o conhecimento, mais do que nunca, é do tipo estrutural. São necessários os conhecimentos prévios para que um novo conceito seja introduzido. No entanto, na tentativa de se introduzir muita informação, algumas delas ficam por demais simplificadas, chegando a parecer inverídicas. Nesse sentido é que se questiona se o conteúdo programático do ensino médio não deveria ser revisto. Não seria mais prudente que o aluno que viesse a se interessar pela área biológica obtivesse conhecimentos mais aprofundados sobre Genética no ensino superior? Não seria mais fácil se esses profissionais compreendessem em profundidade os processos moleculares da célula no ensino superior? No Reino Unido, um novo currículo para alunos até 16 anos vem sendo introduzido e a carga horária obrigatória de ciências vem dando lugar a um quadro de disciplinas optativas nesta área. O aluno que se interessar por alguma área poderá se aprofundar nestes estudos. Do contrário, ele terá as informações básicas que possibilitem a escolha do conteúdo escolhido, como um cidadão (Burden e Hall, 2005). A compreensão do aluno poderia ser mais facilmente assimilada se não viesse do ensino médio com conceitos errôneos que o impedem de visualizar os processos corretamente. Afinal, como sugerido anteriormente (Venville e Treagust, 1998), o processo de aprendizado (especialmente sobre conceitos de gene) é uma evolução que envolve a assimilação conceitual onde um conceito prévio é reconciliado com novas concepções.

## **Bibliografia**

Agradeço aos alunos do Curso de Ciências Biológicas turma N2, Universidade Federal de Minas Gerais, no 2º Semestre de 2005 por terem colhido a maior parte dos dados aqui apresentados: Andreza Almeida, Gabriela Breder, Gabriela Calinçani, Letícia Azevedo, Rafaela Paim, Bruno Bicalho, Leandra Castro, Rodrigo Veloso, Paulo Roberto Gomes Filho, Wagner Magno, Felipe Gomide, Marcelle Oliveira, Marina Oliveira, Gabriela Márcia, Arthur Almeida, Cristiane Pereira, Laura Jesus, Raphael Silveira, Vivian Rocha.

## **Referências:**

Brasil. (1997) Ministério da Educação e do Desporto - MEC/Fundação Nacional de Desenvolvimento da Educação-FNDE. Programa Nacional do Livro Didático-PNL D 98. Guia de livros Didáticos 1ª à 4ª séries.

Brasil. (1998) Ministério da Educação e do Desporto - MEC/Fundação Nacional de Desenvolvimento da Educação-FNDE. Programa Nacional do Livro Didático-PNL D 98. Guia de livros Didáticos 5ª à 8ª séries.

Brasil. (2006) Ministério da Educação. Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação. (Em 17/02/2006)  
[http://www.fn de.gov.br/home/index.jsp?arquivo=/ld\\_ensino\\_medio/ld\\_ensinomedio.html#consultas](http://www.fn de.gov.br/home/index.jsp?arquivo=/ld_ensino_medio/ld_ensinomedio.html#consultas)

Burden J., and Hall A. (2005). Biology in the Twenty First Century: a new curriculum for school science. *Journal of Biological Education* 40: 6-10.

Venville G. J., and Treagust D. F. (1998). Exploring conceptual change in genetics using a multidimensional interpretive framework. *Journal of Research in Science Teaching* 35: 1031-1055.



## **Células-tronco: o que são e o que serão?**

Regina Célia Mingroni-Netto e Eliana Maria Beluzzo Dessen

*Centro de Estudos do Genoma Humano. Departamento de Genética e Biologia Evolutiva. Instituto de Biociências USP  
renetto@ib.usp.br. embdesse@ib.usp.br*

### **A diferenciação celular**

Nosso corpo é formado por trilhões de células, organizadas em diversos tecidos. Todas elas se originam de uma única célula – o zigoto - resultado da união de um espermatozóide com o óvulo. À medida que o zigoto se divide e o embrião cresce, grupos de células vão se tornando diferentes em estrutura e função, devido ao processo de diferenciação celular. Esse processo é controlado pelo DNA, que contém a mesma informação genética em todas as células de nosso corpo. Se a informação contida no DNA é a mesma, como as células podem se tornar tão diferentes? Isso ocorre porque cada tipo de célula diferenciada possui um conjunto particular de genes ativos. Como consequência, o conjunto de proteínas codificadas pelos genes em funcionamento varia de acordo com o tipo celular. Por exemplo, nas células das glândulas salivares devem estar ativos genes que codificam as enzimas secretadas na saliva. Os genes que determinam a produção das enzimas da saliva não devem estar ativos em outro tecido do corpo. Essa atividade diferencial dos genes começa a ser determinada no embrião e persiste nos tecidos adultos ao longo da vida.

Todas as células têm duas características importantes: o seu grau de diferenciação e a sua potencialidade. Enquanto o grau de diferenciação reflete o quanto uma célula é especializada, a potencialidade refere-se à capacidade que ela tem de originar outros tipos celulares. Quanto maior a potencialidade da célula, geralmente será menor o seu grau de diferenciação. O zigoto é a célula com a máxima potencialidade, pois ele dá origem a todos os tipos de células. No outro extremo, há células com potencialidade nula, como é o caso dos glóbulos vermelhos, que perdem seu núcleo no processo de diferenciação, perdendo, conseqüentemente, a capacidade de originar células iguais a elas.

### **Células indiferenciadas: as células-tronco**

Células-tronco são células indiferenciadas com capacidade de multiplicação prolongada ou ilimitada, capazes de produzir pelo menos um tipo de célula diferenciada. Ao se dividirem, as células-tronco podem produzir dois tipos de células: uma indiferenciada, igual à célula original que mantém o estoque desse tipo celular, e

outra um pouco diferente, em início de processo de diferenciação.

Elas podem ser classificadas segundo sua capacidade de gerar novos tipos celulares, ou seja, sua potencialidade. Em ordem decrescente de potencialidade estão as células-tronco totipotentes, pluripotentes e multipotentes. O zigoto e as primeiras células que resultam de sua divisão são totipotentes, pois podem originar todos os tipos de células e, se separadas, como ocorre na origem de alguns casos de gêmeos, podem originar até um organismo inteiro. Células pluripotentes são aquelas que conseguem se diferenciar na maioria dos tecidos, menos em anexos embrionários. São células pluripotentes as células-tronco presentes na massa interna do blastocisto, estrutura que corresponde a um aglomerado com cerca de 200 células, no quinto dia do desenvolvimento do embrião. Células multipotentes têm potencialidade para originar alguns tipos celulares. Um exemplo de células multipotentes é o das células da medula óssea, que dão origem a diversos tipos de células sanguíneas.

Quanto à sua origem, as células-tronco podem ser classificadas em células-tronco embrionárias ou adultas.

As células-tronco embrionárias, atualmente cultivadas em laboratório, são obtidas a partir de um embrião nos estágios iniciais de desenvolvimento, na fase anterior à implantação no útero materno, ou seja, o blastocisto. As células-tronco denominadas embrionárias estão localizadas no interior do blastocisto, formando a chamada massa interna de células, constituída por cerca de 30-35 células. Já a camada de células exterior do blastocisto (o trofoectoderma) vai originar estruturas extra-embrionárias como a placenta e o saco amniótico. À medida que o embrião se desenvolve, as células-tronco embrionárias do interior do blastocisto se diferenciam em todos os tipos de células do nosso organismo: sangue, pele, músculo, fígado, cérebro etc.

O outro grupo importante de células-tronco são as chamadas células-tronco do adulto. Elas também são versáteis, mas possuem menor potencialidade de diferenciação do que as células-tronco embrionárias. As células-tronco do adulto melhor caracterizadas e mais utilizadas na medicina são as células hematopoéticas da medula óssea. Além da medula óssea, essas células são particularmente abundantes no sangue do cordão umbilical e

da placenta dos recém-nascidos. Nesse caso, também são consideradas células-tronco de adulto.

Até pouco tempo atrás, sabia-se da existência de células-tronco apenas em um número reduzido de tecidos do organismo adulto: as células-tronco hematopoéticas; as células-tronco gastrintestinais – associadas à regeneração do revestimento gastrintestinal; as células-tronco responsáveis pela renovação da camada epidérmica da pele e as células precursoras dos espermatozóides (espermatogônias). Acreditava-se que as células-tronco de adulto estivessem relacionadas apenas à reposição de células dentro do mesmo tecido de origem, mas descobertas recentes apontaram sua surpreendente capacidade de se transformar em outros tipos de tecidos e de reparar tecidos danificados.

Hoje se sabe que as células-tronco de adulto podem estar presentes em vários outros tecidos, sendo as responsáveis pela regeneração parcial destes tecidos no caso de ferimentos ou doenças que os destroem. Até bem pouco tempo, acreditava-se que, uma vez que uma célula-tronco de adulto tivesse sido determinada para se diferenciar em célula de um certo tecido, seu destino não poderia ser mudado e ela não poderia jamais originar célula de um outro tipo de tecido. Porém, pesquisas têm mostrado que elas são mais flexíveis do que se imaginava. Por exemplo, experimentos realizados com células-tronco do cérebro e de músculo de camundongo mostraram que, se manipuladas em laboratório, elas podem originar células hematopoéticas desses animais.

### **Terapia celular e as células-tronco**

A utilização terapêutica de células-tronco é uma das formas mais promissoras de tratamento de muitas doenças. Mas, essa não é uma idéia nova: a medicina já faz uso desse tipo de terapia há muito tempo nos transplantes de medula óssea.

O transplante de medula óssea resultou do seguinte raciocínio: como todas as células do sangue e do sistema imunológico são originadas a partir de células-tronco presentes na medula, caso haja algum dano ou problema com esse sistema em uma pessoa, ele pode ser substituído por um sistema saudável. O transplante é indicado para o tratamento de várias doenças graves que afetam as células do sangue, como anemia aplásica grave (doença em que não há formação das células sanguíneas), algumas doenças hereditárias (exemplo, talassemias) e vários tipos de leucemias (exemplos, leucemia mielóide aguda, leucemia mielóide crônica, leucemia linfóide aguda). Os pacientes são inicialmente tratados com altas doses de quimioterápicos e radiação para eliminar as células da medula óssea doente. O tecido sadio de um doador é então introduzido através de uma veia do receptor e as células migram para a medula.

Um fator importante a ser observado para o sucesso do transplante é a compatibilidade celular. Antes que o transplante ocorra, os tecidos do receptor e do doador em potencial devem ser analisados para verificar a compatibilidade, ou seja, o grau de semelhança, dos antígenos HLA (**H**uman **L**eukocyte **A**ntigen). As células do sangue apresentam em sua superfície proteínas específicas,

codificadas por um conjunto de genes conhecidos como Complexo Principal de Histocompatibilidade – MHC (do inglês, **M**ajor **H**istocompatibility **C**omplex). Essas proteínas funcionam como antígenos, ou seja, induzem à formação de anticorpos, se transferidas para outro organismo. Nos seres humanos, esses antígenos são denominados HLA. Quanto mais aparentados forem dois indivíduos, mais alelos do MHC eles terão em comum. Se as células tiverem vários desses antígenos HLA diferentes, o sistema imunológico do receptor considera essas células como estranhas e tenta matá-las e as células do doador também tentam eliminar as células do receptor. Esse é o processo de rejeição. Como não é fácil encontrar um doador compatível, muitas vezes são realizados transplantes em que a compatibilidade HLA entre doador e receptor é parcial. Quando não há acesso a um doador compatível, a solução é procurar em bancos de doadores de medula.

Além da medula óssea, células-tronco de adulto podem ser facilmente obtidas a partir de cordão umbilical, um órgão que liga o feto à placenta e lhe assegura a nutrição por meio de vasos sanguíneos durante a gestação. Imediatamente após o parto, o cordão é pinçado para impedir que o sangue contido em seu interior se perca, e o sangue é retirado com o auxílio de uma agulha. As células vermelhas do sangue são coletadas e a amostra é congelada e armazenada por até 15 anos, sem que haja perda da qualidade das células-tronco. O uso de células-tronco do sangue de cordão umbilical em transplantes é mais vantajoso do que o de medula óssea, por vários motivos: elas se implantam mais eficientemente, são mais tolerantes à incompatibilidade entre receptor e doador, têm disponibilidade imediata e há possibilidade de realização do transplante sem que o doador seja submetido a qualquer tipo de procedimento cirúrgico. A facilidade de coleta e da análise prévia de antígenos HLA estimulou a criação de Bancos de Sangue de Cordão Umbilical no Brasil.

Quando cultivadas em laboratório, as células-tronco, como as hematopoéticas, por exemplo, podem se diferenciar em células de outros tecidos, tais como fígado, intestino, pele, músculo cardíaco, e células nervosas.

Embora se saiba da existência dessas diversas possibilidades de diferenciação, a maneira como isso ocorre ainda não está clara. Por isso, pesquisadores no mundo inteiro buscam compreender os mecanismos envolvidos na diferenciação celular. A idéia é a de que se possa manipular essas células para que elas venham a fornecer outros tipos celulares.

Novas tentativas interessantes de terapia usando as células-tronco adultas já foram realizadas, principalmente no tratamento de doenças do coração como os infartos do miocárdio. Nesses casos, há morte de parte do tecido cardíaco e as células remanescentes não são capazes de reconstituir o tecido morto. Experimentos indicam que as células-tronco hematopoéticas introduzidas no sangue são capazes de migrar para áreas doentes e de ajudar a originar novas células de músculo cardíaco e de vasos sanguíneos, mas como isso ocorre exatamente ainda não está claro.

## **A polêmica sobre o uso de células-tronco embrionárias em terapia celular**

De um modo geral, existem três métodos de obtenção de células-tronco em laboratório para finalidades terapêuticas. O primeiro método é o já explicado acima, ou seja, a partir de células-tronco de adulto, como já se faz no transplante de medula óssea ou no tratamento das doenças do coração.

Na segunda possibilidade, está a obtenção de células-tronco embrionárias a partir de um embrião em fase inicial de desenvolvimento, o blastocisto. O uso dessas células, muito comum em pesquisas com animais, tem gerado muita polêmica no caso dos humanos, pois impede o desenvolvimento do embrião. Uma proposta viável seria a utilização dos embriões humanos excedentes produzidos por fertilização *in vitro* (em laboratório) e que ficam congelados nas clínicas de fertilização assistida. A grande questão é se seria ético utilizar estes embriões para a obtenção de células-tronco que poderão ser usadas na pesquisa de futuras terapias.

A terceira possibilidade seria a obtenção de células-tronco embrionárias geneticamente idênticas às da pessoa que as doou. Esse método de obtenção de células-tronco é popularmente chamado de clonagem terapêutica. Na clonagem terapêutica, um ovócito sem núcleo de uma doadora recebe um núcleo de uma célula somática do indivíduo doador. Se houvesse desenvolvimento embrionário até a fase do blastocisto, as células-tronco poderiam ser retiradas e utilizadas no estabelecimento de linhagens celulares geneticamente idênticas às células do indivíduo doador. As células obtidas desta maneira poderiam ser empregadas no tratamento de doenças sem que haja problemas de rejeição. Embora se utilize a palavra clonagem, isto não significa que se deseja obter um organismo inteiro clonado, mas somente as células-tronco embrionárias da fase do blastocisto. Para a obtenção de um organismo inteiro clonado seria necessário que o embrião, no início do desenvolvimento, fosse implantado no útero de uma mulher. Neste caso, a clonagem seria reprodutiva e não terapêutica. Esse foi o procedimento usado para obtenção da ovelha Dolly, clonada em 1997. Ainda não se obteve sucesso nas tentativas de clonagem terapêutica realizadas em humanos.

Mas, se as células-tronco de adulto podem ser tão versáteis, por que não trabalhar somente com elas e deixar as embrionárias de lado, pois estas estão cercadas de polêmica? A resposta não é simples: as células-tronco de adulto são raras e muito difíceis de serem obtidas nos tecidos onde ocorrem. A sua multiplicação em laboratório é mais vagarosa do que a das células-tronco embrionárias e, em teoria, a sua potencialidade de diferenciação é mais reduzida do que a das células embrionárias, pois já estão em estado mais adiantado de diferenciação celular. Além disso, logo após o seu estabelecimento em laboratório, elas perdem a capacidade de se dividir e se diferenciar. Portanto, ainda não se sabe se as células-tronco de adulto poderão substituir perfeitamente as células-tronco embrionárias.

A situação ideal para a terapia celular seria estabelecer um procedimento para substituir qualquer tipo de tecido lesado ou doente. Para isso, é necessário que se descubra qual o verdadeiro potencial e quais as limitações do uso das células-tronco embrionárias e de adulto. Mas, muita pesquisa é ainda necessária a fim de se conseguir tal processo.

Somente após uma discussão séria que envolva a todos os segmentos da sociedade, que deve estar ciente dos riscos e benefícios de tais atividades, podemos chegar a um consenso sobre a utilização responsável e ética dessas células.

No Brasil, o projeto da Lei de Biossegurança, cujos pontos principais são a regulamentação da produção de alimentos transgênicos e da pesquisa com células-tronco embrionárias foi aprovado em 2005. O projeto permite que células-tronco possam ser obtidas de embriões humanos produzidos por técnicas de fertilização *in vitro*, desde que estejam congelados há pelo menos três anos e que haja consentimento dos casais doadores. Neste caso, as células poderão ser utilizadas para fins de pesquisa de novos tratamentos.

O mais importante a se ressaltar nesse momento é que a permissão para pesquisas com células-tronco embrionárias não significa a obtenção de tratamentos milagrosos a curto-prazo. O que surgiu de novo nos últimos tempos é a esperança de que esse tipo de pesquisa possa apresentar novidades nos tratamentos de doenças até agora incuráveis com os métodos convencionais, como diabetes, doença de Parkinson, doença de Alzheimer, lesões decorrentes de acidentes e um leque de doenças hereditárias em geral não tratáveis.

### **O que há de novo sobre terapia com células-tronco?**

Algumas tentativas de terapia com células-tronco não embrionárias já foram realizadas em várias partes do mundo. Neurônios obtidos de tecido mesencefálico de fetos foram implantados no cérebro de pacientes com doença de Parkinson. Os neurônios implantados sobreviveram nos receptores, liberaram a dopamina, um neurotransmissor, e melhoraram os sintomas da doença. No entanto, esse tratamento dificilmente será uma rotina pela dificuldade de obtenção de tecidos suficientes para transplantes e por problemas éticos. O ideal seria obter, a partir de células-tronco embrionárias, neurônios diferenciados *in vitro* que seriam então implantados em pacientes. Estudos recentes mostraram que essa estratégia é viável em camundongos e até mesmo em primatas.

No Brasil, três grupos de pesquisadores do Rio de Janeiro, da Bahia na Bahia e de São Paulo trabalham para consolidar a possibilidade de que as células-tronco de adulto sejam uma boa opção para tratamento da insuficiência cardíaca grave causada por hipertensão, infartos ou doença de Chagas. Em alguns experimentos, células-tronco da medula óssea foram retiradas por punção e injetadas no próprio coração. Em outros casos, células-tronco hematopoéticas foram filtradas do sangue do próprio paciente para aplicação no local lesado. Um hormônio que



estimula a liberação das células-tronco da medula óssea para a circulação sanguínea foi empregado nesses casos para aumentar a concentração de células disponíveis para o tratamento. Alguns dos pacientes tratados desse modo apresentaram melhora do quadro clínico após os experimentos. No entanto, os pesquisadores estão conscientes de que ainda é cedo para assegurar a eficiência dessas técnicas, pois poucos casos foram estudados. Mesmo com resultados de sucesso, certamente, ainda serão necessários alguns anos para que esses tipos de tratamento se tornem disponíveis para todos os pacientes porque ainda estão nas fases iniciais dos estudos clínicos.

No Brasil há equipes trabalhando em tentativas de tratar pessoas afetadas por doenças auto-imunes, como por exemplo, o lúpus eritematoso sistêmico, utilizando células-tronco de medula óssea.

Convém ressaltar que todos os experimentos citados acima se basearam na aplicação de células-tronco de adulto. Nenhum experimento terapêutico foi ainda realizado em seres humanos com células-tronco embrionárias. Apenas animais foram submetidos à experimentação com células-tronco embrionárias.

Mesmo os países que aprovaram a utilização de células-tronco embrionárias em pesquisas sobre tratamento de doenças ainda terão que esperar muito tempo para ver os resultados chegarem à rotina dos tratamentos médicos. Mas, sem dúvida, uma revolução na medicina pode estar se aproximando.

## **Bibliografia para consulta**

### **Livro**

Pereira, LV. Clonagem, fatos & mitos. São Paulo, Moderna, 2002.

### **Periódicos**

Tianqing Li, Jiawei Zheng, Yunhua Xie, Shufen Wang, Xiuzhen Zhang, Jian Li, Lifang Jin, Yuanye Ma, Don P. Wolf, Qi Zhou, Weizhi Jia. Transplantable Neural Progenitor Populations Derived from Rhesus Monkey Embryonic Stem Cells. Stem Cells Vol. 23 No. 9 October 2005, pp. 1295-1303

Oliver Brüstle, Kimberly N. Jones, Randall D. Learish, Khalad Karram, Khalid Choudhary, Otmar D. Westler, Ian D. Duncan, Ronald D. G. McKay - Embryonic Stem Cell-Derived Glial Precursors: A Source of Myelinating Transplants - Science 30 July 1999:Vol. 285. no. 5428, pp. 754 - 756

### **Jornais e Revistas**

Jornal O Estado de São Paulo – 10 de maio de 2004 - O que é célula-tronco - Mayana Zatz

Revista Pesquisa FAPESP - Injeções de vida: clonagem e terapia celular, Marco Antônio Zago Ed 73 03/2002

Revista Pesquisa FAPESP - Coração restaurado, Ricardo Zorzetto, Ed 88 06/2003

Revista Pesquisa FAPESP - As células de mil faces. Ed 89 07/2003

Revista Época – Edição 214, 24 de junho de 2002. Americanos encontram células adultas que dão origem a qualquer outro (Link [http://epoca.globo.com/nd/20020623ct\\_e.htm](http://epoca.globo.com/nd/20020623ct_e.htm))

### **Páginas na Internet**

Com Ciência – Clonagem Humana (células-tronco) – Dráuzio Varella  
([http://www.drauziovarella.com.br/artigos/clonagem\\_mhumana.asp](http://www.drauziovarella.com.br/artigos/clonagem_mhumana.asp))

Imuno-hematologia  
(<http://ioh.medstudents.com.br/>)

Página do Genetic Science Learning Center da Universidade de Utah –  
<http://gslc.genetics.utah.edu/units/stemcells>

Página do National Marrow Donor Program  
[http://www.marrow.org?MEDICAL/cord\\_blood\\_transplantation\\_basic.html#hla](http://www.marrow.org?MEDICAL/cord_blood_transplantation_basic.html#hla)

FDA web site: Human GeneTherapy and Role of Food and Drug Administration  
[http://www.fda.gov/cber/infosheets.genezn.htm](http://www.fda.gov/cber/infosheets/genezn.htm)

Página do National Institute of Health  
<http://stemcells.nih.gov/info/basics/basics3.asp> de íntron é essencial para o ensino sobre splicing alternativo no ensino superior.

## Entendendo Ligação Gênica: uma Simulação

Vilas-Boas, Adlane e Bucciarelli-Rodriguez, Mônica

Laboratório de Genética de Microrganismos. Instituto de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Minas Gerais. Av. Antonio Carlos 6627. Belo Horizonte – Minas Gerais. CEP 31270-901. Email: [adlane@ufmg.br](mailto:adlane@ufmg.br)

Ligação gênica (ou linkage – termo mais usado no ensino médio) é um tema de difícil abordagem tanto no ensino médio como no superior. Em nossa experiência com o ensino superior, uma deficiência no aprendizado do processo como um todo faz com que o aluno não se sinta confortável com o aprofundamento do assunto. Para diminuir esse impacto, usamos este exercício em turmas de genética básica do ensino superior para estruturar os conhecimentos sobre ligação gênica, após, no mínimo, uma aula conceitual inicial.

### Público alvo:

Alunos de ensino médio e superior

### Tempo envolvido em sala de aula:

De 15 a 30 minutos, dependendo do aprofundamento desejado.

Material necessário:  
Barbante (~5m)  
papel azul e rosa

### Procedimento:

1. A turma deve ser dividida em quatro grupos de até 10 alunos cada. É interessante que esteja no quadro negro a representação da disposição dos cromossomos.
2. Pedir aos alunos de dois grupos que dêem as mãos ao colega próximo e formem inicialmente duas fileiras representando os cromossomos homólogos.
3. Três alunos de cada fileira, serão escolhidos para ter no pescoço um colar feito de barbante em cuja extremidade estará um objeto. O objeto pode ser o recorte de forma geométrica como círculos e triângulos, de preferência em papel azul e rosa, para representar os alelos paternos e maternos de três locos.
4. Dar início à duplicação do cromossomo pedindo aos outros dois grupos que formem duas novas fileiras, representando as cromátides. Nesse ponto, os alunos em frente àqueles que têm no pescoço os colares, deverão receber também um colar com um objeto de mesmo formato e cor.

5. Os cromossomos podem ser telocêntricos e os últimos alunos das fileiras podem representar os centrômeros, ficando mais próximos uns dos outros.

6. O crossing-over é iniciado após a ação do professor, que funcionará como uma tesoura e pede que dois alunos adjacentes larguem a mão um do outro. Em seguida, estes dois alunos ficarão com uma das mãos dada a dois colegas da outra fileira (cromátides não-irmãs), formando um “quiasma”.

7. A partir do “quiasma”, os alunos de uma fileira migram para outra levando os outros colegas ainda de mãos dadas. Aqui, apesar de uma certa confusão física na passagem, o aluno percebe por que, a partir do crossing-over, toda seqüência do cromossomo, que está longe do centrômero, também muda.

8. As variações que são feitas a seguir deverão sempre ter como referência os locos determinados previamente. Entre dois locos, que estão mais ou menos distantes, deve-se demonstrar quantos diferentes crossing-overs poderiam separar os locos uns dos outros. Os objetos podem, inclusive, ser mudados de lugar, como por exemplo: um mesmo indivíduo carrega dois diferentes colares para demonstrar genes 100% ligados (seria preciso cortar o aluno ao meio para que esses locos se segregassem). Podem ser feitos “quiasmas” com outras combinações de cromátides não-irmãs, para demonstrar quem pode participar das permutas.

9. Para que os alunos que representam os centrômeros não se sintam deixados de lado na brincadeira, pode-se representar um loco muito próximo ao centrômero e demonstrar por que tais genes quase não sofrem crossing-over.

Este exercício é muito elucidativo e bem aceito entre os alunos, especialmente os de licenciatura em Ciências Biológicas, ainda que inicialmente alguns demonstrem timidez para executá-lo.

### Bibliografia para consulta:

- Pierce, B. A. Genética – Um enfoque conceitual. 1ª ed. Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, R.J. 2004. 758 p.
- Purves, W. K.; Sadava, D.; Orians, G. H.; Heller H. C. Vida - A Ciência da Biologia. Vol I – 6ª ed. Artmed, Porto Alegre, RS. 2002. 496 p.



## A história da ciência como aliada no ensino de genética

Neusa Maria John Scheid<sup>1</sup>, Nadir Ferrari<sup>2</sup>

<sup>1</sup>URI – Santo Ângelo/RS e PPGECT- UFSC. End. R. Estilac Leal, 828 Bairro Aliança . CEP 98 803 – 190 Santo Ângelo/RS. Email [scheid@via-rs.net](mailto:scheid@via-rs.net) . <sup>2</sup>NUEG/CCB/PPGGECT – UFSC [naferrari@ccb.ufsc.br](mailto:naferrari@ccb.ufsc.br)

Palavras-chave: História da Ciência, concepção de Ciência, ensino de Genética.

Um número significativo de trabalhos em Ensino de Genética tem sido apresentado nos últimos encontros científicos, tanto da área de Genética como de outras áreas das Ciências Biológicas e da Educação. A relevância desta nova área de pesquisa é evidenciada quando, nos cursos de formação continuada de professores, temas relacionados à Genética surgem como uma das maiores preocupações no ensino de Biologia.

Muitas pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de levantar e/ou analisar os conhecimentos e a compreensão que jovens estudantes têm sobre Genética, assim como a percepção sobre questões suscitadas pela aplicação das novas tecnologias genéticas em diversos contextos (Wood-Robinson et al., 1998; Lewis; Leach; Wood-Robinson, 2000; Lewis; Wood-Robinson, 2000, entre outros). Os resultados dessas pesquisas são preocupantes pois revelam que nem mesmo os conceitos básicos de Genética, como a relação gene/cromossomo e a finalidade dos processos de mitose e de meiose, são compreendidos pelos estudantes ao final dos anos de escolaridade obrigatória. Giordan e Vecchi (1996) ressaltam que, embora as questões referentes ao DNA tenham sido rapidamente incorporadas ao currículo do Ensino Médio, os estudantes permanecem confusos em relação aos conceitos envolvidos. Os autores comentam que, apesar de praticamente todos os alunos terem algo a dizer sobre o tema, a maioria deles usa a terminologia científica confundindo o sentido de diferentes termos, configurando um pseudo-saber. Nesse sentido, Longden (1982) e Thomas (2000) também concordam que muitos problemas de aprendizagem de Genética são oriundos de uma compreensão inadequada da terminologia. Estas dificuldades poderia ser decorrentes de um ensino descontextualizado e baseado apenas na memorização.

No que se refere ao ensino de Genética, um dos maiores problemas encontrados reside na veiculação da idéia/visão de Ciência como verdade inquestionável. Esta concepção dificulta o entendimento da natureza da atividade científica e desestimula os estudantes. A concepção positivista de Ciência, ainda muito presente,

impõe uma racionalidade técnica que faz com que, muitas vezes, os professores sintam-se responsáveis pela detenção das verdades definitivas que deverão transmitir aos estudantes.

Diante dessa realidade, a introdução da História da Ciência, como fonte de inspiração para a definição de conteúdos e para a proposição de estratégias de ensino, sugerida por Bastos (1998) e denominada por Matthews (1994) *integrated approach* (abordagem integrada), pode ser uma grande aliada, pois possibilita desenvolver uma compreensão da natureza da Ciência que se acredita adequada.

Os Parâmetros Curriculares Nacionais (PCN) de Biologia sugerem, e as Diretrizes Curriculares para os cursos de Ciências Biológicas estabelecem, na definição dos conteúdos curriculares básicos, um eixo de fundamentos filosóficos e sociais, envolvendo “conhecimentos básicos de História, Filosofia e Metodologia da Ciência, Sociologia e Antropologia, para dar suporte à sua atuação profissional na sociedade, com a consciência de seu papel na formação de cidadãos” (Brasil, 2001, p. 6, grifo nosso).

Porém, como advertem Smith e Scharmann (1999), o professor deve entender que o objetivo não é o de formar especialistas nesse campo do conhecimento, mas ajudar os estudantes a compreender melhor como funcionam a Ciência e a Tecnologia contemporâneas.

Igualmente, se a História da Ciência for apresentada apenas como uma seqüência linear de fatos marcantes para a construção do conhecimento científico em questão, ou se os episódios históricos forem apresentados de forma anedótica, também não se atingirá o objetivo proposto. Como adverte Brush (1974, p. 1164), “o modo como os cientistas se comportam (de acordo com historiadores) poderia não ser bom modelo para os estudantes”. Em vista disso, argumentamos que, para a utilização de relatos históricos no ensino, é mister que se realize anteriormente uma análise epistemológica do conteúdo expresso.

Entendemos que, para se atingir a melhoria do ensino/aprendizagem de Genética, o caminho a ser percorrido é o da cooperação entre a Educação Científica e a História da Ciência. Os trabalhos desenvolvidos por Justina e Ferrari (2000), Castilho-Delizoicov (2002), Leite (2004) e Scheid, Ferrari e Delizoicov (2005) são alguns materiais que poderão ser úteis aos professores que se engajarem nesse empreendimento. No entanto, há ainda a necessidade de serem produzidos mais trabalhos que atendam ao exposto anteriormente, que sejam publicados e tornados acessíveis aos professores, de modo a auxiliá-los em sua prática.

### Referências bibliográficas

BASTOS, F. História da Ciência e pesquisa em ensino de ciências: breves considerações. In: NARDI, R. (org). **Questões atuais no Ensino de Ciências**. São Paulo: Escrituras, 1998, p. 43-52.

BRASIL. Ministério da Educação, Conselho Nacional de Educação. **Diretrizes Curriculares para os cursos de Ciências Biológicas**. PARECER CNE/CES N 1301/2001, de 6 de novembro. Disponível em: <http://portal.mec.gov.br/cne/arquivos/pdf/CES1301.pdf>

BRUSH, S. G. Should the History of **Science** Be Rated X? *Science*, v. 183, p. 1164-1172, mar 1974.

CASTILHO-DELIZOICOV, N. **O movimento do sangue no corpo humano: história e ensino**. Tese (Doutorado em Educação) – Centro de Ciências da Educação, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2002.

GIORDAN, A. ; VECCHI, G. **As origens do saber: das concepções dos aprendentes aos conceitos científicos**. Trad. Bruno Charles Magne. Porto Alegre: Artes Médicas, 1996.

JUSTINA, L. A. D.; FERRARI, N. Bachelard: A teoria mendeliana como exemplo de ruptura – A construção do conhecimento científico na escola. *Biotemas*, v. 13, n. 2, p. 119-135, 2000.

LEITE, R. C. M. **A Produção Coletiva do Conhecimento Científico: um exemplo no ensino de Genética**. Tese (Doutorado em Educação) – Centro de Ciências da Educação, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2004.

LEWIS, J.; LEACH, J.; WOOD-ROBINSON, C. What's in a cell? – young people's understanding of the genetic relationship between cells, within an individual. *Journal of Biological Education*, v. 34, n. 3, p. 129-132, 2000.

LEWIS, J.; WOOD-ROBINSON, C. Genes, chromosomes, cell division and inheritance – do students see any relationship? *International Journal of Science Education*, v. 22, n. 2, p. 177-195, 2000.

LONGDEN, B. Genetics – are there inherent learning difficulties? *Journal of Biological Education*, v. 16, n. 2, p. 135-140, 1982.

MATTHEWS, M. R. **Science Teaching: The Role of History and Philosophy of Science**. London: British Library Cataloguing, 1994.

SCHEID, N. M. J.; FERRARI, N.; DELIZOICOV, D. A construção coletiva do conhecimento científico sobre a estrutura do DNA. *Ciência & Educação*, v. 11, n. 2, (no prelo), 2005.

SMITH, M.U.; SCHARMANN, L.C. Defining versus describing the nature of science: a pragmatic analysis of classroom teachers and science educators. *Science Education*, v. 4, n.83, p. 493-509, 1999.

THOMAS, J. Learning about Genes and Evolution through Formal and Informal Education. *Studies in Science Education*, v. 35, p. 59-92, 2000.

WOOD-ROBINSON, C.; LEWIS, J.; LEACH, J.; DRIVER, R. Genética y Formación Científica: resultados de un proyecto de investigación y sus implicaciones sobre los programas escolares y la enseñanza. *Enseñanza de las Ciencias*, Barcelona, v.1, n.16, p.43-61, 1998.



## Genética no Ensino Médio: uma prática que se constrói

Francis de Moraes Franco Nunes<sup>1,2</sup>, Karine Sá Ferreira<sup>2</sup>, Wilson Araújo da Silva Jr<sup>1,2</sup>, Marisa Ramos Barbieri<sup>2</sup> e Dimas Tadeu Covas<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Genética e <sup>2</sup>Centro de Terapia Celular Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. e-mail: [francis@rge.fmrp.usp.br](mailto:francis@rge.fmrp.usp.br)

Palavras-chave: Genética, Genoma, Câncer.

### 1. Introdução

A partir de 1996, com a aprovação da Lei de Diretrizes e Bases (LDB) da Educação Nacional (nº 9394/96), o sistema educacional brasileiro passou por uma reestruturação, visando a melhoria da qualidade de ensino e o efetivo papel da escola na sociedade.

O artigo 26 da LDB destaca a importância da flexibilização curricular, propondo a inclusão de conteúdos diversificados, que atendam as características sócio-culturais e econômicas de cada região ou escola.

Em virtude das mudanças globais, a informação em tempo real e a influência do mercado na vida humana tornam a prática pedagógica mais do que apenas transferência de conhecimentos.

Preocupado em democratizar o conhecimento, o Centro de Terapia Celular (CTC) um dos dez CEPID (Centros de Pesquisa, Inovação e Difusão) financiados pela FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) tem proporcionado, desde o ano de 2001, a atualização de professores e alunos do Ensino Fundamental e Médio de Ribeirão Preto-SP e região. Entre as atividades desenvolvidas está o acesso ao ambiente de pesquisa que se dá por meio de grupos orientados por alunos de pós-graduação e docentes da Universidade de São Paulo (USP). Intitulado "As células, o Genoma e Você", o projeto educacional do CTC tem como objetivos: difundir conhecimentos gerados em laboratório e que possibilitem o contato dos grupos com técnicas modernas da Biologia Celular e Molecular. Essas condições são essenciais para estabelecer conteúdos de biologia e saúde aliados ao estímulo à Ciência e consequente produção de material didático.

O presente trabalho relata uma prática pedagógica que pode contribuir para a organização dos conteúdos relacionados ao tema Genética.

#### 1.1. Contexto escolar

Consoante a realidade educacional brasileira, as escolas estaduais da rede de ensino público de Ribeirão Preto e região enfrentam dificuldades, desde a captação de recursos financeiros e didáticos, a inadequação à progressão continuada e a falta de compromisso com os Parâmetros Curriculares Nacionais. As Escolas envolvidas no projeto do CTC, consideradas modelos educacionais na década de 70, procuram manter um ensino de boa qualidade. Para trabalhar com questões de saúde, os professores de Ciências e Biologia recorrem aos livros didáticos, que informam, superficialmente, sobre doenças, agentes etiológicos e regras de higiene, não correspondendo às expectativas nem do professor, nem dos alunos, levando-os ao desinteresse.

### 2. Hipóteses

Levando-se em consideração as premissas destacadas e visando-se desenvolver um programa que culmine na construção de conhecimentos, centramo-nos nas seguintes hipóteses:

1 – um grupo de alunos vocacionados para Biologia e aptos a trabalhar informações extracurriculares em horário extraclasse, consegue desenvolver atividades paralelas que conjugam criatividade, investigação e, conseqüentemente, maior interesse e assimilação no aprendizado de novos conceitos;

2 – o contato de um pesquisador, presente na escola, acompanhando e orientando as atividades desenvolvidas por alunos e professores, acelera a aquisição de novos conhecimentos e, em médio prazo, instala mecanismos de autonomia que propiciam a continuidade de trabalho, mesmo em sua ausência;

3 – o tema Genoma Humano e Câncer, amplamente divulgado na mídia constitui-se em ferramenta pedagógica capaz de motivar os alunos a ponto de desenvolver interesse pelo seu conhecimento e difusão, o que pode alterar atitudes e comportamentos nos âmbitos escolar e social;

4 – trabalhar novos temas consiste em adequar a linguagem às características do público alvo, estimulando-o a relacionar informações, ensejando a investigação científica.

### 3. Metodologia

Possibilitar o acesso de professores e alunos a centros de pesquisa fortalece o intercâmbio entre pesquisadores e a escola para que as oportunidades não sejam desperdiçadas e vocações sejam despertadas (Daré et al., 1998). Dentro desse contexto, o grupo de trabalho foi composto por pesquisadores do CTC, professores e alunos de Ciências e Biologia das Escolas Estaduais “Raul do Prado Vianna” (Sertãozinho-SP), “Professora Eugenia Vilhena de Moraes” e “Doutor Guimarães Júnior” (ambas de Ribeirão Preto-SP), para planejar e desenvolver atividades teórico-práticas acessíveis à sala de aula, para compreensão de temas em Genética, com especial enfoque em Genoma Humano e Câncer.

Em aulas extraclasse, o grupo trabalhou com conceitos básicos de Biologia Celular (principalmente mitose e meiose), Genética (Leis de Mendel, estrutura e dinâmica cromossômica) e, finalmente, as bases hereditárias e moleculares do Câncer e Genoma Humano (estrutura de ácidos nucleicos e proteínas, replicação, transcrição e tradução da informação genética, código genético, genes, alelos e mutações). Os encontros com os alunos tratavam de questões do cotidiano, relacionadas aos temas e eram informais, descontraídos e realizados em um laboratório improvisado (antigo depósito).

A única exigência para os alunos foi um caderno de anotações para tomar nota de conceitos e atividades durante os encontros. Em grupo, os alunos organizavam suas iniciativas (por exemplo a encenação de uma dramatização teatral, vide resultados) com base em suas anotações, assemelhando-se este processo ao trabalho de campo de um pesquisador.

Para avaliar o grau de conhecimento dos alunos antes e durante o desenvolvimento das atividades, foi aplicado um questionário em três momentos distintos, com as seguintes questões:

- 1 – O que você entende por DNA?
- 2 – Por que as células se dividem?
- 3 – Com que finalidade o DNA se empacota?
- 4 – Qual a relação da meiose com a sexualidade (reprodução)?

Dez alunos, tomados aleatoriamente no grupo, foram amostrados. Foram atribuídas notas de 0 a 10 às respostas, de acordo com o grau de informações que elas traziam.

### 4. Ações e resultados

Os professores que integraram o grupo ficaram estimulados com o tema que, segundo eles, proporciona atualização e renovação das atividades em sala. Os processos de construção de novas práticas e esclarecimentos sobre o conteúdo aconteciam nas reuniões que ocorreram duas vezes por semana, com a participação espontânea dos alunos e seus professores de Biologia, em horário extraclasse.

As atividades foram realizadas durante 08 meses do ano de 2001, em que se desenvolveram inúmeras

estratégias, dentre elas, a recuperação e a organização de uma “sala-depósito” para realização dos encontros, uma iniciativa dos envolvidos para revitalização do espaço ocioso (Figura 1). Esse ambiente foi utilizado para discussão de temas, filmes e textos sobre temas em Genética e Genômica, além do planejamento e execução das atividades que seguem.

#### 4.1. Participação no HTPC (horário de trabalho pedagógico coletivo)

Com o objetivo de envolver a administração escolar e professores de todas as disciplinas no Projeto, discutimos o caráter multidisciplinar da Genética, no HTPC. Mais do que discutir metodologias inovadoras, o HTPC serviu como um laboratório vivo de aprendizagem com propostas de atividades paralelas sobre o tema Genoma Humano e Câncer. Propusemos, por exemplo, trabalhar funções periódicas (trigonometria) baseada na estrutura dos giros e sulcos presentes na dupla hélice de DNA ou estudar a história recente do Brasil comparada com datas importantes em que se registraram avanços da Genética desde Mendel, buscando relações histórico-científicas. O tema tem características que transcendem as Ciências e a Biologia.

As visitas periódicas às escolas têm alcance limitado, não suficientes para serem incorporadas à prática dos professores, porém, permitiram que eles verificassem que é possível e adequado à cultura científica da escola, trabalhar temas transversais e atividades que perpassam as disciplinas.

#### 4.2. Reuniões semanais

Como ensinar Genoma Humano e Câncer, do ponto de vista molecular, no contexto do Ensino Médio? Trata-se de um assunto novo, complexo, porém já integrado à vida humana, seja em experiências familiares, seja na divulgação pela imprensa. Temas da Genética como transgênicos, teste de paternidade, clonagem e células-tronco, serviram como ponto de partida. Durante os 08 meses de atividades ocorreram reuniões semanais entre orientadores e professores. Foi montado um repertório de perguntas elaboradas pelos alunos (Figura 2), as quais foram discutidas nesses encontros.

Ao tratar do processo mitótico de divisão celular, a preocupação não era apenas aprender as quatro fases (prófase, metáfase, anáfase e telófase), mas sim as implicações que envolvem a formação do embrião após a fecundação, seu crescimento e desenvolvimento até adulto, regeneração e cicatrização de tecidos lesados. Para a meiose, o importante era entender que a propagação das espécies sexuadas ocorre graças à formação de gametas, que carregam parte do genoma do indivíduo, onde estão informações biológicas para seu desenvolvimento e sobrevivência, além de ser um mecanismo que gera variabilidade genética. A partir daí já se estabeleceu um “gancho” para compreender homozigose e heterozigose,

dominância e recessividade, segregação de alelos, genes, mutações, expressão gênica e síntese protéica.

Observa-se aqui a concretização de um processo de aprendizagem baseada em relações de conceitos. A presença do pesquisador traz à escola essa dimensão, que falta aos estabelecimentos públicos de ensino.

#### 4.3. Discussões e Visitas Técnico-científicas

A primeira etapa constituiu-se de Visitas Técnico-científicas aos laboratórios de pesquisa do CTC, onde houve contato com profissionais e explanação das atividades realizadas em cada setor (Figura 3). Foram utilizados modernos recursos áudio-visuais interligados à Internet, que proporciona envolvimento e interesse dos participantes.

Em seguida, foram trabalhados documentários e filmes relacionados à Genética, como, por exemplo, **GATTACA** (Columbia Pictures Corporation / Jersey Films), que permitiram discussões sobre Ciência e Ética.

#### 4.4. Concurso de logomarca

Propôs-se aos alunos um concurso para definir uma logomarca para a equipe, sem identificação dos autores, para que o resultado final fosse a soma de várias idéias (Figura 4A). A partir daí, toda a produção do grupo trouxe a marca, inclusive foram confeccionadas camisetas, que serviam para as apresentações das atividades na escola, no CTC e na comunidade (Figura 4B).

#### 4.5. Cartilha e Hemeroteca

Foram montadas hemerotecas, após pesquisa de reportagens atuais sobre temas ligados à Genética e ao Genoma (Figura 5A). A partir desse material foram produzidos e expostos murais nos corredores da escola.

Foi organizada uma cartilha sobre curiosidades e dúvidas relacionadas ao câncer. Para isso, os alunos entrevistaram profissionais na área de Oncologia, pós-graduandos e docentes da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP (Figura 5B), a fim de esclarecer dúvidas e produzir o material. Essa experiência aproximou a comunidade escolar, pesquisadores e laboratórios, reforçando a idéia de que os muros que separam a Universidade da sociedade podem ser virtuais e, ainda, o compromisso extensionista da academia.

#### 4.6. Feira de Ciências e Teatro

Os alunos prepararam painéis resumindo seus conhecimentos e apresentando, de forma simples e didática, conceitos ligados à clonagem, estrutura do DNA e ao genoma (Figura 5C). Apresentaram vídeos (Figura 5D), modelos tridimensionais de células e DNA (Figura 5E), além da modelagem de cromossomos para compreensão dos eventos de divisão celular.

O auge de todo o processo foi a elaboração e execução de uma dramatização teatral (Figura 5F), de autoria e direção dos próprios alunos. O tema escolhido foi

clonagem humana e, embutido na trama, um caso de leucemia em que o indivíduo clonado serviu como doador compatível para transplante de medula óssea. A dramatização discute preconceito, ética e o sucesso de pesquisas e intervenções médicas nos dias atuais. Destacam-se as apresentações na Estação Ciência (USP, São Paulo-SP), no Hemocentro de Ribeirão Preto e em escolas da rede pública, sempre seguidas de debates. As ações mostraram, acima de tudo, habilidades de pesquisa bibliográfica, redação, distribuição de tarefas, espírito de grupo e responsabilidade para ensaios e apresentações por parte dos alunos.

#### 4.7. Aprendizagem de conceitos em Genética

Com relação à evolução na aprendizagem e fixação de novos conteúdos, registramos respostas espontâneas, desvinculadas de conceitos pré-definidos em livros didáticos. O gráfico da Figura 6 mostra aumento significativo de conhecimento ao longo das atividades, para as quatro questões formuladas. As respostas ao questionário indicam que o assunto desperta interesse.

#### 5. Avaliação do processo e discussão

Os resultados até o momento demonstram o envolvimento cada vez maior de alunos e professores com o Programa e a “contaminação” desse conhecimento se propagando para suas escolas e para as suas famílias. Alguns pais de alunos passaram a colaborar com o Programa, estimulando a participação de seus filhos.

Juntamente com a revisão e construção de conceitos, sentiu-se a necessidade de explorar as potencialidades da equipe, além da aquisição dos conteúdos em Genética. O objetivo era transformar o conhecimento em ferramentas úteis que viabilizassem maior retenção do conteúdo e, finalmente, a aprendizagem.

Esse trabalho tem caráter científico e multiplicador; seus resultados foram continuamente avaliados na tentativa de se chegar a um modelo mais adequado para o ensino de Genética nos níveis Fundamental e Médio.

O teste das hipóteses foi baseado em critérios científico-educacionais. Desenvolvemos estratégias pedagógicas capazes de nivelar o conhecimento dos envolvidos, favorecer a troca de experiências, em linguagem e contatos informais. Ao mesmo tempo, buscou-se incorporar as novas abordagens da Genética e Biologia Molecular ao cotidiano, com aplicação na escola. As criatividades artística, escrita e interpretativa foram exploradas, somadas, estimulando a aprendizagem. Os resultados evidenciam a importância do trabalho extraclasse, comprovam o comprometimento, a interação e senso de responsabilidade dos envolvidos, em processo espontâneo de construção do conhecimento.

O Genoma, por ser uma novidade constante na mídia, parece atrair um maior interesse dos jovens, que passam a se diferenciar no misto de magia e ciência. O acesso à Universidade, sempre visto como um espaço distante e para privilegiados, assim como o contato com



pesquisadores, têm sido fatores importantes para um trabalho bem-sucedido. É evidente que o trabalho extraclasse exige projetos e mais atenção aos vocacionados, aproximando esses jovens e despertando a importância da coletividade. O registro e a análise do processo deixam memória e documentos para posteriores consultas e cristalizam a aprendizagem – os participantes percebem “o feito e o aprendido”.

A barreira que existe entre a Universidade e a sociedade foi minimizada e, também, a visão utópica e distante que aquele público tem dos cientistas. Nessa oportunidade, os alunos puderam observar que o Brasil é capaz de produzir conhecimento de alto nível, de forma competitiva e que, para fazer Ciência, são necessários vocação e dedicação, pois as oportunidades existem.

Como discutido, a realidade mundial é hegemônica e dependente de regras comerciais. Num espectro mais humanista, percebe-se que os valores humanos, a prática da cidadania e a formação crítica estão menos presentes.

A Ciência é fundamental na educação dos povos e países com sub-desenvolvimento científico e ineficiência na transmissão desses conhecimentos, comprometendo seu futuro. A divulgação dos avanços da Ciência e Tecnologia é necessidade e deve preparar o cidadão para assimilar informações de qualidade, que aprimorem seu juízo crítico e, conseqüentemente, dão solidez a uma sociedade verdadeiramente democrática (Lima, 1999).

A Educação é a única ferramenta capaz de diminuir desigualdades e, com o extraordinário avanço científico, o intuito é que professores e estudantes despertem o interesse por temas contextualizados nas tendências globais e no seu cotidiano, projetando seu significado para uma atuação profissional responsável.

É o conflito humano-tecnológico que está surgindo. Os conceitos milenares de paternidade, maternidade, (...) com inseminação artificial, clonagem. Hábitos milenares estão mudando de forma muito rápida e se as pessoas não têm a possibilidade de entender o alcance das mudanças, elas estarão não só alienadas de seu próprio universo social, mas sofrendo (De Meis, 2001).

As hipóteses e os resultados obtidos com esse Projeto foram coerentes, uma vez que os temas em Genética, Genoma Humano e Câncer proporcionaram suporte para abordagens pedagógicas, capazes de motivar alunos e professores, que desenvolveram interesse pelo conhecimento. O registro e a avaliação do processo somados à atividades criativas auxiliaram na construção e consolidação de novos conceitos.

#### **Agradecimentos (*in memoriam*)**

À Profa. Dra. Maria Cristina Ramos Costa e à Dra. Bárbara Amélia Aparecida Santana, pela revisão e sugestões apresentadas, e ao Prof. Dr. Marco Antonio Zago, coordenador do CEPID, pelo seu apoio entusiástico a essa iniciativa. Ao Prof. Dr. Dalton de Souza Amorim e ao MSc Vinicius Moreno Godoi pelo incentivo e presteza. Aos funcionários da Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto pelo apoio logístico, fundamental ao êxito das atividades

educacionais, em especial à Sandra Navarro Bresciane, à Maria Delfina Felgueiras, à Meire Tarla, à Dalva Catto, ao Airton Vieira de Almeida e ao Luiz Fernando Ribas. Às professoras Maria Regina Pires, Nércia R. Stamato, Rosemary A. B. S. Ferreira, Ana Luiza G. Cleto e Renata M. Ferracioli (*in memoriam*), pela oportunidade de desenvolvermos as atividades resumidas nesse manuscrito. Auxílio financeiro: Programa CEPID – Centros de Pesquisa, Inovação e Difusão/FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo).

A coordenação educacional e toda documentação relativa às atividades (fotos, registros, artigos para *Jornal das Ciências*, materiais didáticos, entre outros) ficam a cargo da equipe da Casa da Ciência, instalada nas dependências da Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto – SP. Parte desse material foi transferido para uma ampliação da Casa da Ciência situada no Campus da USP – Ribeirão Preto, o MuLEC (Museu e Laboratório de Ensino de Ciências), que foi equipado com recursos da Fundação Vitae (2005).

#### **Referências bibliográficas**

Dare GLR, Carvalho CP & Barbieri MR. 1998. Pesquisando o que se ensina: uma metodologia para o aprimoramento contínuo da educação. *Pediatria* **20** (4): 292-300.

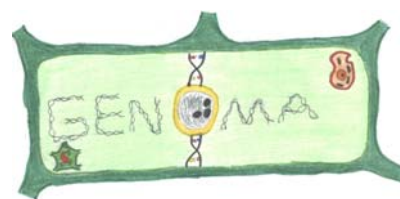
De Meis L. 2001. Ciência com arte e emoção. Pesquisa **FAPESP** **70**: 88-91.

Lima JCV. 1999. **Divulgação científica e sociedade**. Ciência e Tecnologia – Informativo semanal da Radiobras [on line]. Acessível em: [http://www.radiobras.gov.br/abrn/c&t/artigos/1999/artigo\\_121199.htm](http://www.radiobras.gov.br/abrn/c&t/artigos/1999/artigo_121199.htm)

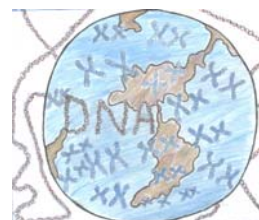


**Figura 1.** Espaço revitalizado na Escola Estadual Professora Eugênia Vilhena de Moraes, Ribeirão Preto – SP, por professores e alunos daquela instituição. O antigo depósito foi transformado em local apropriado para realização das diferentes atividades do Projeto.

Por que o câncer mata?  
 Câncer é doença de velho?  
 1- O que é genoma?  
 3º Que tipo de pesquisa vocês usam para entender o genoma

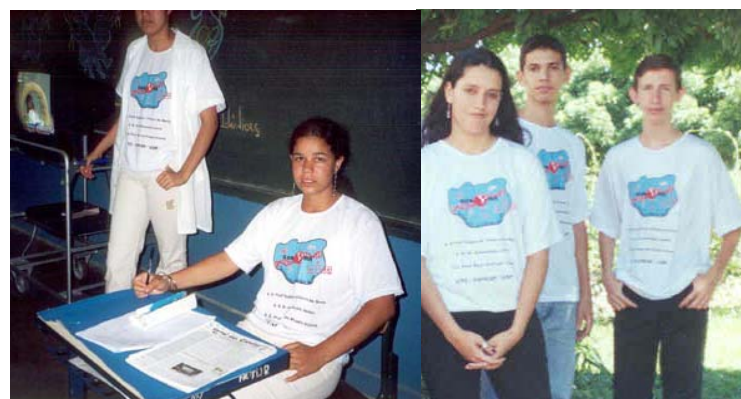


1



2

**Figura 2.** Exemplos de perguntas elaboradas pelos alunos sobre os temas Genoma Humano e Câncer.



B

**Figura 4.** Criação de logomarca pela equipe: célula estilizada resultante da soma de idéias (A) como a da célula vegetal (1) e globo terrestre (2). A equipe confeccionou camisetas com a logomarca (B).

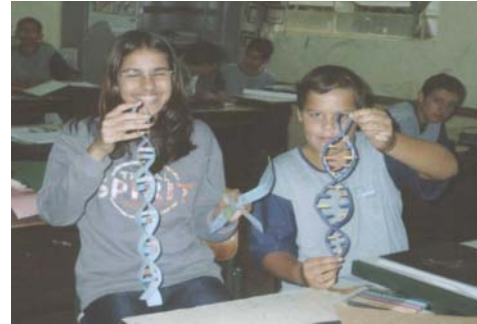
**Figura 3.** Alunos e professores do Ensino Fundamental e Médio em Visita Técnico-científica ao Centro de Terapia Celular / Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto (A) Laboratório de pesquisa do CTC com acompanhamento de profissionais que investigam Genoma Humano e Câncer (B).



B



C



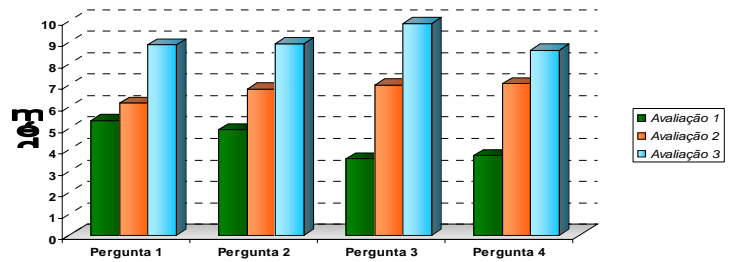
F



D

**Figura 5.** Alunos em atividades: Pesquisa bibliográfica para montagem de hemeroteca e murais (A) Equipe e o Dr Rodrigo Proto Siqueira, especialista em Leucemias (B) Apresentação de material didático em Feira de Ciências (C) Apresentação e discussão de filmes e vídeos sobre temas de Genética (D) Destaque para o cartaz e uma aluna-atriz na divulgação da peça teatral intitulada “O Clone” (E) Elaboração de modelos tridimensionais de DNA (F).

E



**Figura 6.** Média da evolução conceitual das respostas sobre as perguntas: 1 – O que você entende por DNA? 2 – Por que as células se dividem? 3 – Com que finalidade o DNA se empacota? 4 – Qual a relação da meiose com a sexualidade (reprodução)? Avaliações realizadas de Março a Novembro de 2001.



## Técnicas de manipulação genética em plantas: Uma análise crítica

Ernesto Paterniani<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Professor Titular, ESALQ/USP - E-mail: epater@merconet.com.br.*

Palavras-chave: Melhoramento convencional, Biotecnologia, transgênese, mutagênese, seleção.

### Resumo

Desde o seu início, a agricultura vem alcançando crescentes níveis de eficiência, graças em grande parte aos progressos da Genética e suas aplicações no desenvolvimento de técnicas de manipulação genética. Praticamente todo o melhoramento genético até o presente momento foi obtido utilizando-se os métodos identificados como convencionais. Com a moderna Biotecnologia, novas técnicas foram disponibilizadas, ampliando as possibilidades de manipulação genética, como no caso das cultivares transgênicas, cujo cultivo vem aumentando anualmente, embora enfrentando ainda forte oposição de certos setores. Entretanto, é cada vez mais evidente que os transgênicos são tão ou mais seguros do que os correspondentes não transgênicos para a saúde humana ou animal e nesse sentido devem ser considerados como coadjuvantes do melhoramento convencional. A complexidade técnica para a obtenção de cultivares transgênicas, aliada à demora das aprovações das comissões de biossegurança e da justiça, conduz a um significativo atraso na sua utilização pela sociedade. Uma comparação entre a mutagênese e a transgênese, mostra diferenças evidentes, relativas à biossegurança dessas tecnologias. Embora técnicas da biotecnologia representem uma importante contribuição na incorporação de características desejáveis às cultivares, técnicas convencionais de seleção, em especial os esquemas de seleção recorrente em suas várias modalidades, com eficiência comprovada, ainda apresentam um grande potencial a ser explorado para o melhoramento genético das plantas.

### Introdução

A alimentação é, sem dúvida, a necessidade mais essencial do ser humano. Graças à invenção da agricultura há 10.000 anos, de maneira independente, pelo menos em duas regiões, no Velho e no Novo Mundo, a humanidade passou a depender menos da imprevisível caça e coleta de alimentos. A eficiência da agricultura atingiu níveis surpreendentes, pois, enquanto a caça exigia 2500 ha para alimentar uma pessoa, uma agricultura com tecnologia moderna consegue, em 250 ha alimentar 4000 pessoas (Stork e Teague, 1952 e Borlaug, 1972). Por isso é que, atualmente, toda a área dedicada à agricultura no mundo é

igual à área da América do Sul, mas, se a produtividade agrícola fosse igual à de 1950, para se obter a mesma produção seria necessário cultivar uma área equivalente a todo o Hemisfério Ocidental (Avery, 1994). Todo esse progresso foi obtido graças aos contínuos conhecimentos da natureza das plantas e de técnicas do seu cultivo. Inicialmente, com a domesticação e seleção empírica, foi possível desenvolver cultivares da quase totalidade das espécies hoje cultivadas. Após a redescoberta das leis mendelianas em 1900, e o subsequente desenvolvimento da Genética, o melhoramento das plantas passou a ser cada vez mais eficiente, graças a uma série de tecnologias desenvolvidas ao longo do século XX. Devem ser mencionadas ainda, contribuições significativas dos avanços da Agronomia, destacando-se as áreas de nutrição e adubação das plantas, fitopatologia, entomologia, engenharia agrícola, plantio direto, entre outras. Há, entretanto, necessidade de contínuos progressos para se conseguir uma agricultura cada vez mais eficiente na produção de alimentos e fibras, elevando a produtividade por hectare, preservando o ambiente e conservando ou mesmo aumentando a fertilidade do solo para as gerações futuras, o que corresponde a uma agricultura sustentável.

O melhoramento genético tem sido um componente altamente significativo na contribuição para o progresso da agricultura. Inúmeras técnicas de manipulação genética estão hoje disponíveis, podendo ser classificadas, de forma abrangente, como convencionais e biotecnológicas. Não se pretende efetuar uma revisão das metodologias genéticas dessas técnicas, uma vez que isso está amplamente disponível na literatura especializada, além de fugir do escopo deste trabalho.

O objetivo deste é discutir a utilização das técnicas convencionais e biotecnológicas, em especial com relação às suas potencialidades, limitações, críticas relacionadas à biossegurança e perspectivas de aplicação nos programas de melhoramento das plantas.

### Técnicas de manipulação genética

As técnicas de manipulação genética mais amplamente empregadas, visando ao melhoramento, têm-se baseado na reprodução sexual em suas várias modalidades,

o que tem sido considerado por certos críticos da biotecnologia como formas mais naturais e mais aceitáveis de manipulação genética. A Tabela 1 relaciona, de forma genérica, as técnicas disponíveis, em função do emprego ou não da reprodução sexual.

As técnicas mencionadas relativas à reprodução estão extremamente resumidas, pois envolvem uma grande gama de modificações, destacando-se a seleção massal e suas modificações, as várias formas de seleção recorrente e seleção recorrente recíproca, incluindo o emprego de progênies específicas como meios irmãos, irmãos germanos, progênies endogâmicas (S1, S2, etc.), além das combinações dos diferentes tipos de progênies. Uma revisão desse assunto, incluindo os diferentes tipos de milho híbrido, as diversas modalidades de obtenção de linhagens e suas avaliações, pode ser apreciada em Paterniani (1990), Hallauer e Miranda Filho (1995), Paterniani (2001) e Souza Jr. (2001). Genericamente, essas técnicas têm sido identificadas como convencionais, em contraposição às consideradas biotecnológicas, estas no sentido mais restrito.

Tabela 1. Técnicas disponíveis de manipulação genética em plantas

### 1. Com reprodução sexual

- Seleção – Intra e interpopulacional
- Hibridação – Intra e Interspecífica
- Heterose – Vigor de híbrido
- Retrocruzamento

### 2. Sem reprodução sexual

- Ploidia – Alterações no número de cromossomos
- Transgênese – Transferência de genes exógenos
- Mutagênese – Indução artificial de mutações
- Variação somaclonal – Reprodução de indivíduos a partir de células somáticas
- Hibridação somática – Fusão de protoplastos
- Cíbridos – Citoplasma e organelas da espécie A e núcleo da espécie B
- Transplastomia – Transferência de plastídeos exógenos

Dentre as técnicas que são independentes da reprodução sexual, a ploidia, iniciada por volta de 1920 e a mutagênese descoberta por Muller (1927) e Stadler (1930), são relativamente antigas em relação às demais. Nem todas essas técnicas têm sido empregadas com intensidade semelhante. Ploidia, mais utilizada no passado, é pouco empregada atualmente. A variação somaclonal, inicialmente considerada bastante promissora, tem hoje pouca aplicação devido ao reduzido sucesso obtido. A hibridação somática e os cíbridos, encontram-se ainda em estágios essencialmente experimentais. As técnicas mais empregadas, atualmente, são a mutagênese e a transgênese. De grande repercussão, os transgênicos crescem de importância a cada ano, ao mesmo tempo que enfrentam fortes oposições. Os

transplastômicos oferecem a possibilidade de transferência interespecífica de plastídeos, não afetando, assim, o genoma, o que pode reduzir pelo menos em parte as oposições aos transgênicos. Muito embora o termo Biotecnologia na acepção mais ampla possa ser empregado para designar todo e qualquer processo envolvendo tecnologias relativas aos seres vivos, tem sido mais usual empregar o termo na sua acepção mais restrita, indicando as técnicas laboratoriais de manipulação genética *in vitro*. A obtenção de plantas haplóides pode empregar reprodução com genes marcadores, bem como as técnicas de cultura de anteras, polinização e fertilização *in vitro* e hibridação somática podem empregar uma combinação de processos reprodutivos e não reprodutivos.

Existe uma vasta literatura sobre as técnicas biotecnológicas mencionadas, cuja revisão não é o propósito deste trabalho, podendo-se, no entanto, mencionar Larkin e Scowcroft (1983), Collins *et al.* (1984), Cocking (1984), Bedbrook (1984), Hiatt (1992), Lindsey (1998), Silva-Filho e Falco (2001), Gewolb (2002) e, com especial referência ao milho, Oliver *et al.* (1994).

### Potencialidades, limitações e críticas

O contínuo desenvolvimento da Genética tem proporcionado uma série de técnicas de manipulação genômica, como pode ser apreciado pelo resumo contido na Tabela 1. Sendo o melhoramento de plantas uma ciência essencialmente aplicada, é natural que os melhoristas procurem experimentar, avaliar e utilizar efetivamente as técnicas disponíveis. Embora todas as alternativas indicadas devam ter, em graus variáveis, suas potencialidades de sucesso, na prática os resultados obtidos dependem, em primeiro lugar, do estágio de sua aplicação ao melhoramento (experimental ou avançado) e, em segundo lugar, da intensidade de utilização, que muitas vezes não explora a potencialidade máxima da técnica. Com uma tal diversidade de técnicas, muitas delas ainda em fase experimental, é fácil constatar por que a maioria ainda não foi suficientemente avaliada e adotada pelos programas de melhoramento. Face ao exposto, serão considerados, a seguir, o melhoramento convencional amplamente empregado, a mutagênese e a transgênese, que está em grande evidência.

Praticamente todo o melhoramento das plantas conseguido até o presente se deve ao melhoramento convencional, pela intensidade e extensão do seu emprego. Progressos substanciais têm sido obtidos em todo o mundo, sendo talvez o milho a espécie na qual o melhoramento genético atingiu o mais alto nível. No Brasil, Vencovsky e Ramalho (2000) relatam ganhos anuais obtidos por vários autores, em períodos diferentes, que vão de 31 a 123 kg/ha, com uma estimativa conservadora de um ganho contínuo de 60kg/ha/ano a partir de 1946. De especial significado é a constatação de que os atuais métodos convencionais não esgotaram as suas potencialidades, podendo-se prever subseqüentes progressos desde que sejam empregados com a intensidade requerida.

Os transgênicos, iniciados a partir da década de 70, foram, logo no início, bastante discutidos pelos geneticistas quanto à segurança. Dentre as várias conferências realizadas, destaca-se a de Asilomar que recomendou uma série de procedimentos de biossegurança a serem adotados para as pesquisas com DNA recombinante (Berg *et al.* 1975). Atualmente contam-se centenas de espécies com cultivares transgênicas, destacando-se pela magnitude do cultivo, a soja, o milho e o algodão. Mais de 20 países cultivam transgênicos, destacando-se os Estados Unidos, a Argentina e o Canadá como maiores produtores, e a China com significativo incremento anual de algodão transgênico (James 2000). Dentre os milhos transgênicos, os mais empregados têm sido vários eventos do tipo Bt (*Bacillus thuringiensis*), que conferem resistência a insetos, em especial da ordem lepidóptera, como a lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda*.

Embora a área com transgênicos esteja em constante crescimento em vários países, e apesar da sua aprovação por milhares de pesquisadores, em especial geneticistas, e da ausência de qualquer efeito prejudicial à saúde humana, animal e ao meio ambiente, decorrente dos milhões de pessoas consumidoras desses produtos desde 1996, persiste ainda uma forte oposição aos transgênicos. Está cada vez mais evidente que os transgênicos são tão ou mais seguros do que os correspondentes não transgênicos para a saúde humana e animal. A significativa redução do uso de agroquímicos associados aos transgênicos mais cultivados atualmente, resistentes a insetos, pragas e a herbicidas, contribui sobremaneira para maior proteção do meio ambiente. Transgênicos com características nutricionais superiores estão disponíveis, bem como para inúmeras outras qualidades. Milhares de documentos e depoimentos têm sido elaborados sobre essa controvérsia.

Com o surgimento dos transgênicos, uma nova ciência no século XX passou a ocupar papel de grande destaque: a Biossegurança, voltada para o controle e a minimização de riscos advindos da prática de diferentes tecnologias, sejam elas realizadas em laboratório ou quando aplicadas ao meio ambiente. Em consequência, vários países criaram comissões específicas de biossegurança, com a finalidade de estabelecer normas de experimentação, liberação no meio ambiente e eventualmente elaborar pareceres relativos à aprovação de organismos transgênicos para uso comercial.

Tais procedimentos constituem uma inovação na liberação de cultivares geneticamente melhoradas, uma vez que as milhares de novas cultivares continuamente desenvolvidas pelos melhoristas, sempre foram avaliadas primeiramente pelos próprios pesquisadores e, posteriormente, pelos órgãos competentes das áreas da agricultura, da saúde e do meio ambiente. Evidentemente, essa regulamentação constitui uma complicação adicional que retarda a utilização das novas cultivares transgênicas, representando um ônus para o país, sendo a sua existência de discutível necessidade e mesmo conveniência. Tecnicamente, parece não haver razão para essa discriminação específica, uma vez que outras manipulações genéticas até mais exógenas, como é o caso das mutações

artificialmente induzidas, estão isentas das avaliações das comissões de biossegurança. Os procedimentos utilizados pelos pesquisadores e órgãos competentes têm garantido a segurança das novas cultivares, inclusive as mais de 2000 cultivares atualmente cultivadas, resultantes de mutações artificialmente obtidas. Deve-se destacar que os Estados Unidos adotam para os transgênicos, os mesmos procedimentos empregados para a aprovação das novas cultivares obtidas pelos métodos convencionais, não havendo portanto necessidade de qualquer regulamentação específica para os transgênicos. Em função do uso a que se destina a nova variedade, a análise e eventual aprovação é efetuada pelos órgãos FDA (Administração de Alimentos e Medicamentos), USDA (Departamento de Agricultura) e EPA (Agência de Proteção Ambiental). A regulamentação imposta relativa aos transgênicos, além de ser discriminatória, pois não contempla as demais técnicas biotecnológicas, representa, ainda, uma certa falta de credibilidade para com os melhoristas e demais órgãos que, desde longa data, vêm prestando uma significativa folha de serviços em benefício da humanidade.

### **Melhoramento convencional e transgênese**

Do ponto de vista do melhoramento genético, é importante salientar que os métodos convencionais e a transgênese, não são mutuamente excludentes: ao contrário, são complementares, e é neste contexto que devem ser considerados. Na verdade, todo o progresso genético para produtividade e demais atributos quantitativos, foi obtido pelos métodos convencionais. A transgênese apenas incorporou, nas variedades superiores, um ou poucos genes responsáveis por características específicas que conferem certas vantagens adicionais, como resistência a insetos pragas, herbicidas, entre outras. O emprego dos QTLs (quantitative trait loci) embora vislumbrado pela transgênese, continua uma expectativa indefinida. Sem dúvida, os transgênicos são importantes como elemento coadjuvante para aumentar a eficiência da produção agrícola, trazendo benefícios para a instituição detentora, para o agricultor e, a médio prazo, também para o consumidor, que deverá contar com produtos mais acessíveis e de melhor qualidade. Face ao exposto, vários programas de melhoramento têm dirigido consideráveis recursos para a obtenção dos transgênicos resultando em certa limitação nas atividades com métodos convencionais. Como os recursos para pesquisa sempre são limitados, é importante estabelecer um equilíbrio que contemple de forma adequada as tecnologias disponíveis e que melhor atenda as perspectivas de melhoramento genético.

A presente situação tem certa semelhança com a época do advento do milho híbrido, quando os programas passaram a atuar quase exclusivamente na obtenção de híbridos, paralisando o melhoramento populacional, que mais tarde foi retomado inclusive para garantir futuros progressos do milho híbrido. Percebe-se que a ênfase dada à biotecnologia parece ignorar o papel da seleção na manipulação genética. Atualmente, mesmo distinguidos geneticistas não mais consideram a seleção como fator

relevante no melhoramento genético. Isso é surpreendente, pois é a seleção o fator preponderante pela grande variabilidade dos seres vivos e pelo melhoramento obtido, além de que, a própria transgênese depende fortemente da seleção. Como se sabe, na transgênese os genes são inseridos nos cromossomos ao acaso, resultando em um certo número de eventos não previsíveis. A seguir, as células cujos marcadores indicam a presença do gene inserido, devem regenerar as plantas correspondentes a serem avaliadas e selecionadas para eventual escolha de um evento promissor. Uma vez obtido o evento desejável, o gene em questão pode ser transferido a outros genótipos pelo conhecido método convencional do retrocruzamento. Embora teoricamente, a transgênese pode ser considerada rápida; na prática, a obtenção do produto final leva vários anos. Adicionando o tempo requerido pelas comissões de biossegurança e, em casos específicos, a demora das análises na justiça, o tempo para que o produto possa ser efetivamente utilizado pela sociedade pode chegar a uma dezena ou mais de anos.

Conforme mencionado acima, inúmeros esquemas de melhoramento convencional, tanto para a obtenção de linhagens como para o melhoramento populacional, têm sido propostos ou utilizados com resultados consagrados e eficiência comprovada, destacando-se os esquemas de seleção recorrente e recorrente recíproca em suas várias modalidades (Paterniani, 1990; Hallauer e Miranda Filho, 1995; Paterniani (2001) e Souza Junior, 2001). Cabe salientar que tais esquemas não vêm sendo empregados com intensidade suficiente, indicando que o seu potencial ainda deve ser bastante elevado. Acrescente-se ainda que, com os registros de germoplasma, seus direitos e patentes, há cada vez menos intercâmbio desses materiais entre os geneticistas, o que restringe a variabilidade genética disponível. A seleção, promovendo maior recombinação gênica, fator primordial para aumento da variabilidade genética, compensa, em grande parte, as restrições de acesso a germoplasmas. Além disso, o estudo da seleção poderá esclarecer melhor o seu mecanismo genético, pois, como mostram Wang *et al.* (1999) e Paabo (1999), na domesticação do milho a partir do teosinte, a seleção atuou mais nas regiões reguladoras do que nas regiões codificadoras de proteínas, além da participação da recombinação gênica.

Face às considerações expostas, considera-se que, atualmente, ainda é oportuna e desejável a condução de programas de melhoramento de plantas empregando-se as técnicas convencionais já consagradas como eficientes e ainda não suficientemente exploradas.

Há de se considerar que as técnicas ditas biotecnológicas e as convencionais não são excludentes. As biotecnológicas, incorporando genes específicos nos genótipos superiores melhorados, já comprovaram a sua grande contribuição ao melhoramento, produzindo cultivares menos exigentes em insumos agroquímicos, além

de incorporar melhoramento qualitativo nutricional e outras características desejáveis.

As técnicas convencionais, de eficiência amplamente comprovada, de execução relativamente mais simples e menos custosas do que as biotecnológicas e de resultados mais contínuos, ao longo dos anos ou gerações, deverão continuar produzindo resultados altamente compensadores.

### Mutagênese e Transgênese

Dentre as técnicas de manipulação genética sem reprodução sexual, a mutagênese e a transgênese são as mais empregadas no melhoramento das plantas. Sendo o objetivo de ambas as técnicas semelhante, isto é, a incorporação no genoma de uma cultivar, de gene ou genes não existentes na espécie, e havendo enorme questionamento sobre a segurança dos transgênicos, parece apropriada uma comparação entre as duas tecnologias, como a apresentada na tabela 2. Além das características indicadas, na transgênese, os genes envolvidos são molecularmente identificados, o que não ocorre com a mutagênese. Não se trata de duvidar da segurança das mutações artificialmente induzidas, mas parece bem evidente, que, tecnicamente, não há elementos para questionar a segurança dos transgênicos.

Tabela 2. Características comparativas entre a mutagênese e a transgênese

Características	Mutagênese	Transgênese
Objetivos	Novo gene	Novo gene
Início	Anos 30	1970
Obtenção do novo gene	Aleatória	Determinada
Herança do novo gene	Mendeliana	Mendeliana
Legislação	Não	Sim
Avaliações	Agronômicas	Agronômicas, saúde e meio ambiente
Genes aprovados comercialmente	Mais de 2000	Cerca de 10
Genes experimentais	Mais de 200.000	Cerca de 300
Benefícios p/ agricultor	Sim	Sim
Benefícios p/ meio ambiente	Neutro	Sim
Danos à saúde ao meio	Não	Não

### Literatura Citada

- EVERY, D. T. Saving the planet with high-yield farming. Proceedings of 49th Annual Corn & Sorghum Industry Research Conference, 1994. p.1-12.
- BEDBROOK, J. R. Perspectives on genetic manipulation in plants. p.627 – 636. , 1984. In: T. Kossuge; C. P. Meredith; A. Hollaender (Eds.) Genetic Engineering in Plants. Plenum Press, N. Y., 1984.
- BERG, P. D.; BALTIMORE, S.; BRENNER, R. O.; ROBLIN, I.I.; SINGER, M. F. Asilomar conference on re-



- combinant DNA molecules. *Science*, v.188, p.991 – 994, 1975.
- BORLAUG, N. E. Human population, food demands and wildlife needs. *North American Wildlife and Natural Resource Conference*, 37, mimeo, 1972. 27 p.
- COCKING, E. C. Use of protoplasts: potentials and progress. p.415 – 425. In: J. P. Gustafson (Ed.) *Gene Manipulation in Plant Improvement*. Plenum Press, N. Y., 1984.
- COLLINS, G. B., TAYLOR, N.L.; DE VERNA, J. W. 1984. In vitro approaches to interspecific hybridization. p.323 – 383. In: J. P. Gustafson (Ed.) *Gene Manipulation in Plant Improvement*. Ed. Plenum Press, N. Y. 1984.
- GEWOLB, J. Plant scientists see big potential in tiny plastids. *Science*, v.295, p.258 – 259, 2002.
- HALLAUER, A. R.; MIRANDA FILHO, J.B. *Quantitative Genetics in Maize Breeding*. Ames: Iowa State University Press, 1995. 468 p.
- HIATT, A. (Ed.) *Transgenic Plants – Fundamentals and Applications*. Marcel Dekker, Inc. N. Y., 1992. 340 p.
- JAMES, C. *Global Review of Commercialized Transgenic Crops, 2000*. ISAAA AmeriCenter, Cornell University, Ithaca, NY, 15 p.
- LARKIN, P. J. E W. R. SCOWCROFT. 1983. Somaclonal variation and crop improvement. In: T. Kossuge; C. P. Meredith; A. Hollaender (Eds.) *Genetic Engineering in Plants*, Plenum Press, N. Y. 289 p.
- LINDSEY, K. (Ed.). *Transgenic Plant Research*. Harwood Academic Publishers. The Netherlands, 1998. 296 p.
- MULLER, H. J. Artificial transmutation of the gene. *Science* v. 66, p. 84 – 87, 1927.
- MALUSZYNSKY, M. Induced mutations – An integrated tool in genetics and plant breeding. p.127 – 162. In: J. P. Gustafson (Ed.) *Gene Manipulation in Plant Improvement II*. Plenum Press, N. Y, 1990.
- OLIVER, J. L.; MARIN, A.; MARTINEZ-ZAPATER, J. M.. Maize chloroplast gene transfer to nucleus. In: Y. P. S. Bajaj (Ed.) *Biotechnology in Agriculture and Forestry 25 – Maize*. Springer – Verlag, N. Y., 1994, p.431 – 444.
- PAABO,S. Neolithic genetic engineering. *Nature*, v.398, p.194 – 195, 1999.
- PATERNIANI, E. Maize breeding in the tropics. In: *Critical Reviews in Plant Sciences*, v.9, p.124-154, 1990.
- PATERNIANI, M.E.A.G.Z. Use of heterosis in maize breeding: History, Methods and perspectives – a review. *Crop Breeding and applied Biotechnology*, v.1, n.2, p. 159-178, 2001.
- SILVA-FILHO, M. C.; FALCO, M.C. Plantas transgênicas no melhoramento. p.1011-1056. In: L. L. Nass; A.C.C. Valois; I. S. Melo; M. C. Valadares-Inglis (Eds.) *Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas*. Fundação Rondonópolis, MT, 2001.
- SOUZA JUNIOR., C. L. Melhoramento de espécies alógamas. p.159-199. In: L. L. Nass; A.C.C. Valois; I. S. Melo; M. C. Valadares-Inglis (Eds.) *Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas*. Fundação Rondonópolis, MT, 2001.
- STADLER, L. J. Some genetic effects of X-rays in plants. *Journal of Heredity* v.30, p.3-19, 1930.
- VENCOVSKY, R.; RAMALHO, M. A. P. 2000. Contribuição do melhoramento genético de plantas no Brasil. p.57-89. In: E. Paterniani (Ed.) *Agricultura Brasileira e Pesquisa Agropecuária*. Ed. EMBRAPA, Brasília, 2000.
- WANG, R.; STEC, A.; HEY J.; LUKENS, L.; DOEBLEY, J. The limits of selection during maize domestication. *Nature*, v.398, p.236 – 238, 1999.