

Equilíbrio de Hardy-Weinberg: violações dos pressupostos – alelos múltiplos, genes ligados ao sexo e mais de um loco

AULA

7

Meta da aula

Apresentar as conseqüências das violações do Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) em uma população.

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- Descrever as violações da Lei de Hardy-Weinberg e suas conseqüências.
- Executar o cálculo das freqüências gênicas e genotípicas nas situações especiais de alelos múltiplos, genes ligados ao sexo e mais de um loco.

Pré-requisito

Para acompanhar esta aula, é essencial que você domine o cálculo das freqüências gênicas e genotípicas no Equilíbrio, e a aplicação do teste do qui-quadrado, que aprendemos na Aula 6 desta disciplina.

INTRODUÇÃO

Nesta aula, vamos falar sobre o que acontece com as frequências gênicas e genotípicas quando são rompidas as condições básicas do Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW).

CAUSAS DAS MUDANÇAS –VIOLAÇÕES DOS PRESSUPOSTOS DE HARDY-WEINBERG

Para que uma população seja considerada em Equilíbrio de Hardy-Weinberg, um conjunto de condições (pressupostos) deve ser respeitado:

- os organismos devem ser diplóides;
- a reprodução, sexuada;
- as gerações, não sobrepostas;
- o cruzamento, ao acaso;
- o tamanho de população, grande;
- a frequência de alelos nos sexos deve ser igual;
- a ausência de migração;
- a ausência de mutação;
- a ausência de seleção.

Até aqui, examinamos a dinâmica da alteração da frequência gênica em um loco gênico com dois alelos (A e a). Agora veremos o que ocorre quando são considerados mais de dois alelos em um único loco.

ALELOS MÚLTIPLOS

Sob cruzamento ao acaso as frequências genotípicas, sob cruzamento ao acaso, de um gene com três alelos A_1 , A_2 e A_3 , e correspondentes frequências gênicas p_1 , p_2 e p_3 , onde $p_1 + p_2 + p_3 = 1$, serão:

		Gametas masculinos		
		A_1	A_2	A_3
		p_1	p_2	p_3
Gametas femininos	Alelos			
	Frequência			
A_1	p_1	A_1A_1 p_1^2	A_1A_2 p_1p_2	A_1A_3 p_1p_3
A_2	p_2	A_2A_1 p_2p_1	A_2A_2 p_2^2	A_2A_3 p_2p_3
A_3	p_3	A_3A_1 p_3p_1	A_3A_2 p_3p_2	A_3A_3 p_3^2

Com três alelos existem seis genótipos diplóides e, sob cruzamento ao acaso, as frequências esperadas são a expansão da fórmula:

$$(p_1A_1 + p_2A_2 + p_3A_3)^2$$

Em geral, se existem n alelos:

$$A_1, A_2, \dots, A_n$$

Com as respectivas frequências:

$$p_1, p_2, \dots, p_n$$

Onde:

$$p_1 + p_2 + \dots + p_n = 1$$

Então, as frequências esperadas sob cruzamento ao acaso são:

$$p_i^2 \text{ para homozigotos } A_iA_i$$

$$2p_ip_j \text{ para heterozigotos } A_iA_j$$

Exemplo 7.1

Em 108 moscas adultas de uma população foram analisados polimorfismos de isoenzimas. O gene X_{dh} , que codifica para a enzima xantina desidrogenase, possui quatro alelos: X_{dh-1} , X_{dh-2} , X_{dh-3} e X_{dh-4} , com frequências estimadas de $p_1 = 0,08$, $p_2 = 0,21$, $p_3 = 0,62$ e $p_4 = 0,09$.

(a) Quantos genótipos são possíveis e (b) quais as frequências esperadas desses genótipos?

RESOLUÇÃO

(a) O número de genótipos possíveis é obtido com a combinação dos alelos de dois em dois, assim:

$$X_{dh-1}/X_{dh-1}, \quad X_{dh-1}/X_{dh-2}, X_{dh-1}/X_{dh-3}, X_{dh-1}/X_{dh-4};$$

$$X_{dh-2}/X_{dh-2}, \quad X_{dh-2}/X_{dh-3}, X_{dh-2}/X_{dh-4};$$

$$X_{dh-3}/X_{dh-3}, \quad X_{dh-3}/X_{dh-4};$$

$$X_{dh-4}/X_{dh-4}.$$

Total = 10 genótipos diferentes, sendo quatro homozigotos e seis heterozigotos.

(b) As freqüências dos homocigotos são calculadas como p_i^2 :

$$\begin{array}{lll} X_{dh-1}/X_{dh-1} & p_1 = 0,08 & p_1^2 = 0,0064; \\ X_{dh-2}/X_{dh-2} & p_2 = 0,21 & p_2^2 = 0,0441; \\ X_{dh-3}/X_{dh-3} & p_3 = 0,62 & p_3^2 = 0,3844; \\ X_{dh-4}/X_{dh-4} & p_4 = 0,09 & p_4^2 = 0,0081. \end{array}$$

As freqüências dos heterocigotos são calculadas como $2p_i p_j$:

$$\begin{array}{lll} X_{dh-1}/X_{dh-2} & 2p_1 p_2 = 2 (0,08)(0,21) & 2p_1 p_2 = 0,0336; \\ X_{dh-1}/X_{dh-3} & 2p_1 p_3 = 2 (0,08)(0,62) & 2p_1 p_3 = 0,0992; \\ X_{dh-1}/X_{dh-4} & 2p_1 p_4 = 2 (0,08)(0,09) & 2p_1 p_4 = 0,0144; \\ X_{dh-2}/X_{dh-3} & 2p_2 p_3 = 2 (0,21)(0,62) & 2p_2 p_3 = 0,2604; \\ X_{dh-2}/X_{dh-4} & 2p_2 p_4 = 2 (0,21)(0,09) & 2p_2 p_4 = 0,0378; \\ X_{dh-3}/X_{dh-4} & 2p_3 p_4 = 2 (0,62)(0,09) & 2p_3 p_4 = 0,1116. \end{array}$$

Exemplo 7.2

Considere as seguintes freqüências para os alelos do sistema sanguíneo ABO: $I^A = p = 0,38$; $I^B = q = 0,11$ e $i = r = 0,51$. Complete o quadro abaixo:

Genótipo	Freq. genotípica	Fenótipo	Freq. fenotípica
$I^A I^A$		A	
$I^A i$		A	
$I^B I^B$		B	
$I^B i$		B	
$I^A I^B$		AB	
ii		O	

RESOLUÇÃO:

Genótipo	Freq. genotípica	Fenótipo	Freq. fenotípica
$I^A I^A$	$p^2 = 0,38 \times 0,38 = 0,144$	A	0,532 ou 53,2%
$I^A i$	$2pr = 2 \times 0,38 \times 0,51 = 0,388$	A	
$I^B I^B$	$q^2 = 0,11 \times 0,11 = 0,012$	B	0,124 ou 12,4%
$I^B i$	$2qr = 2 \times 0,11 \times 0,51 = 0,112$	B	
$I^A I^B$	$2pq = 2 \times 0,38 \times 0,11 = 0,084$	AB	0,084 ou 8,4%
ii	$r^2 = 0,51 \times 0,51 = 0,260$	O	0,260 ou 26%

Perceba que o cálculo das freqüências genotípicas é realizado da mesma forma do Exemplo 7.1. Já as freqüências fenotípicas foram calculadas pela soma das freqüências genotípicas para cada tipo sanguíneo. Por exemplo, os genótipos $I^A I^A$ e $I^A i$ correspondem a um só

fenótipo, tipo sanguíneo A, e a frequência é a soma de 0,144 (14,4%) e 0,388 (38,8%) que corresponde a 0,532 ou 53,2%.



ATIVIDADE

1. O sistema de grupos sanguíneos ABO é controlado por três alelos designados I^A , I^B e i . Genótipos $I^A I^A$ e $I^A i$ originam fenótipo de grupo sanguíneo A; genótipos $I^B I^B$ e $I^B i$ originam fenótipo de grupo sanguíneo B; o genótipo ii origina fenótipo de grupo sanguíneo O e o genótipo $I^A I^B$ origina fenótipo de grupo sanguíneo AB. Em um teste em 6313 caucasianos de Iowa City, o número de pessoas com tipo sanguíneo A, B, O e AB é 2625, 570, 2892 e 226, respectivamente. A melhor estimativa para a frequência dos alelos é: $p_1 = 0,2593$ (para I^A), $p_2 = 0,0625$ (para I^B) e $p_3 = 0,6755$ (para i).

- calcule o número esperado de cada um dos quatro fenótipos;
- realize o teste de qui-quadrado de adequação entre as frequências genotípicas observadas e as esperadas no EHW.

RESPOSTA COMENTADA

a) Com três alelos existem seis genótipos que determinam os quatro fenótipos, que são:

$$\text{grupo sanguíneo O} = ii = p_3^2 = 0,6755 \times 0,6755 = 0,4563;$$

$$\text{grupo sanguíneo A} = I^A I^A + I^A i = p_1^2 + 2p_1 p_3 = 0,2593 \times 0,2593 + 2 \times 0,2593 \times 0,6755 = 0,0672 + 0,3503 = 0,4175;$$

$$\text{grupo sanguíneo B} = I^B I^B + I^B i = p_2^2 + 2p_2 p_3 = 0,0625 \times 0,0625 + 2 \times 0,0625 \times 0,6755 = 0,0039 + 0,0844 = 0,0883;$$

$$\text{grupo sanguíneo AB} = I^A I^B = 2p_1 p_2 = 2 \times 0,2593 \times 0,0625 = 0,0324.$$

Note que os valores são apresentados em percentagem (frequências de fenótipos) e o exercício pede o número esperado de pessoas com cada tipo sanguíneo. Para obtermos o número de pessoas, basta multiplicar a frequência pelo número total de indivíduos analisados, que foi 6313.

Assim:

$$\text{grupo sanguíneo O} = 0,4563 \times 6313 = 2880,6;$$

$$\text{grupo sanguíneo A} = 0,4175 \times 6313 = 2635,7;$$

*grupo sanguíneo B = 0,0883 x 6313 = 557,4;
grupo sanguíneo AB = 0,0324 x 6313 = 204,5.
b) O teste do qui-quadrado trabalha com números, não razões ou proporções, e é calculado pela fórmula: $\chi^2 = \sum (obs - esp)^2 / esp$.
 $\chi^2 = (obs - esp)^2 / esp = (2892 - 2880,6)^2 / 2880,6 + (2625 - 2635,7)^2 / 2635,7 + (570 - 557,4)^2 / 557,4 + (226 - 204,5)^2 / 204,5 = 0,045 + 0,434 + 0,285 + 2,260 = 3,0241$. Com 3 classes - 1 - 1 = 1 grau de liberdade corresponde a uma $P = 0,25$ ($P > 0,05$), a população está em EHW para o loco analisado.*

ALELOS RECESSIVOS

A frequência gênica pode ser determinada aplicando-se o Princípio de HW, a partir da frequência genotípica. No caso de um alelo recessivo, os heterozigotos não podem ser distinguidos dos homozigotos para o alelo dominante; portanto, não podemos calcular as frequências gênicas. No entanto, se os genótipos estiverem nas proporções da Lei de Hardy-Weinberg, não há necessidade de se conhecer as frequências dos três tipos de genótipos. Se a , por exemplo, for um alelo recessivo com frequência igual a q , a frequência de homozigotos aa é igual a q^2 , e a frequência gênica é igual à raiz quadrada da frequência do homozigoto recessivo.

$$\text{frequência de } aa = q \times q = q^2$$

$$\text{frequência de } a = \sqrt{q^2} = q$$

GENES LIGADOS AO SEXO

Tudo o que foi dito até agora sobre Equilíbrio de Hardy-Weinberg só se aplica a genes autossômicos. Os genes que estão situados nos cromossomos sexuais atingem uma situação de equilíbrio ligeiramente diferente. No sexo que possui dois cromossomos sexuais X , isto é, **SEXO HOMOGAMÉTICO**, as frequências de Hardy-Weinberg são as mesmas que as dos genes autossômicos. Contudo, no sexo que contém apenas um cromossomo X , **SEXO HETEROGAMÉTICO**, as duas frequências genotípicas (p e q) são idênticas às frequências gênicas em equilíbrio. Se, portanto, tivermos uma população imaginária em que ocorram dois alelos A e a em um loco ligado ao sexo, com frequências gênicas p e q , as frequências do Equilíbrio de Hardy-Weinberg serão:

SEXO HOMOGAMÉTICO

É o que apresenta dois cromossomos sexuais do mesmo tipo. Por exemplo: XX em mulheres, fêmeas de drosófilas, machos de borboletas e mariposas. Do mesmo modo, **SEXO HETEROGAMÉTICO** é o que apresenta dois cromossomos sexuais distintos, como XY em homens.

Sexo homogamético

Genótipo:	AA	Aa	aa
Frequência:	p^2	$2pq$	q^2

Sexo heterogamético

Genótipo:	A	a
Frequência:	p	q

Isto significa que, se a for um alelo raro (a^*), então ele se manifestará, na maior parte das vezes, no sexo heterogamético. Por exemplo, se a frequência de $a^* = q = 0,01$, então, em equilíbrio, teríamos as seguintes frequências genotípicas:

Sexo homogamético

Genótipo:	AA	Aa*	a*a*
Frequência:	0,9801	0,0198	0,0001

Sexo heterogamético

Genótipo:	A	a*
Frequência:	0,99	0,01

O fenótipo determinado pelo alelo a^* será 100 vezes mais freqüente no sexo heterogamético.

Usando a notação que distingue os cromossomos sexuais, as conseqüências de cruzamento ao acaso de indivíduos portadores de um gene com dois tipos de alelos ligados ao X será:

		Gametas masculinos			
		Alelos no X	Alelos no Y		
		Alelos	X^A	X^a	
		Frequência	p	q	
Gametas femininos	Alelos	Frequência	$X^A X^A$	$X^A X^a$	$X^A Y$
	X^A	p	p^2	pq	p
	X^a	q	$X^a X^A$	$X^a X^a$	$X^a Y$
			qp	q^2	q

As frequências gênicas nos zigotos serão:

Sexo homogamético			
Genótipo:	$X^A X^A$	$X^A X^a$	$X^a X^a$
Frequência:	p^2	$2pq$	q^2
Sexo heterogamético			
Genótipo:	$X^A Y$	$X^a Y$	
Frequência:	p	q	

ATIVIDADE



2. Em uma população humana, 7% dos homens são cegos para cores, em consequência de um gene recessivo ligado ao sexo. Assumindo o Equilíbrio de Hardy-Weinberg, que proporção das mulheres é esperada como (a) portadora e (b) cega para cores?

RESPOSTA COMENTADA

Em genes ligados ao sexo, as frequências genótípicas serão p^2 , $2pq$ e q^2 para os genótipos $X^A X^A$, $X^A X^a$ e $X^a X^a$ do sexo homogamético, e serão iguais a p e q (ou seja, iguais às frequências gênicas) nos genótipos $X^A Y$ e $X^a Y$ do sexo heterogamético. Então:
Frequência de homens cegos para cores = $q = 7\% = 0,07$. $p = 1 - q = 0,93$.
a) mulheres portadoras = $X^A X^a = 2pq = 2 \times 0,93 \times 0,07 = 0,13$ ou 13%.
b) mulheres cegas para cores = $X^a X^a = q^2 = 0,07 \times 0,07 = 0,0049$ ou 4,9%.

Mais de um loco

Até aqui examinamos a dinâmica da alteração da frequência gênica apenas em um único loco gênico. Quando se considera mais de um loco, aparecem dois parâmetros adicionais: a interação gênica e a ligação.

Grupos de ligação, equilíbrio de ligação e desequilíbrio de ligação

Sob cruzamento aleatório, os alelos de qualquer gene serão associados ao acaso no genótipo, de acordo com as frequências da Lei de Hardy-Weinberg. Pode parecer paradoxal que cada um de dois genes, A e B, presentes na mesma população, possa obedecer ao EHW, individualmente,

enquanto os alelos de A e de B mantêm-se associados de forma não aleatória nos gametas que formam cada geração. A **Figura 7.1** mostra que isto é possível.

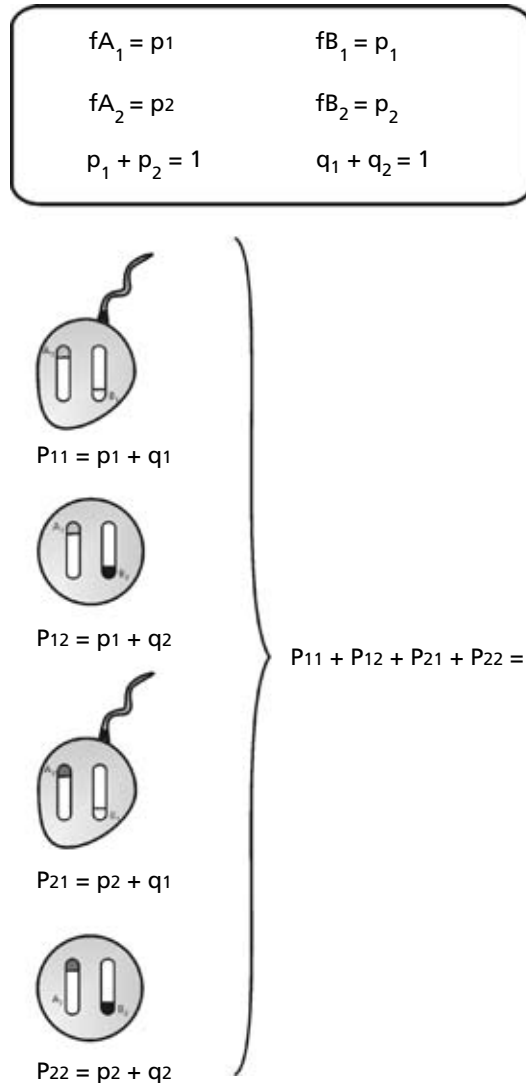


Figura 7.1: Gametas apresentando, em destaque, dois locos em cromossomos distintos e suas freqüências.

Considere dois genes, cada qual com dois alelos, A_1 e A_2 com freqüências p_1 e p_2 , e B_1 e B_2 , com freqüências q_1 e q_2 , respectivamente. Em ambos os casos aplica-se $p_1 + p_2 = 1$ e $q_1 + q_2 = 1$. Os genótipos A_1A_1 , A_1A_2 e A_2A_2 são esperados nas proporções p_1^2 , $2p_1p_2$ e p_2^2 , enquanto os genótipos B_1B_1 , B_1B_2 e B_2B_2 são esperados nas proporções q_1^2 , $2q_1q_2$ e q_2^2 .

O alelo A_1 está em associação ao acaso com o alelo A_2 , e o alelo B_1 está em associação ao acaso com o alelo B_2 . No entanto, apesar de parecer estranho, os alelos do gene A estão em associação ao acaso com os alelos do gene B. Quando os alelos dos genes estão em associação

ao acaso, a frequência de um gameta carregando qualquer combinação particular de alelos é igual ao produto das frequências destes alelos.

Alelos		<u>Alelos do gene A</u>									
		A ₁	A ₂								
Frequência		p ₁	p ₂								
Alelos do gene B	Alelos	Frequência									
	B ₁	q ₁	<table border="1"> <tr> <td>A₁B₁</td> <td>A₂B₁</td> </tr> <tr> <td>p₁q₁</td> <td>p₂q₁</td> </tr> <tr> <td>A₁B₂</td> <td>A₂B₂</td> </tr> <tr> <td>p₁q₂</td> <td>p₂q₂</td> </tr> </table>	A ₁ B ₁	A ₂ B ₁	p ₁ q ₁	p ₂ q ₁	A ₁ B ₂	A ₂ B ₂	p ₁ q ₂	p ₂ q ₂
	A ₁ B ₁	A ₂ B ₁									
	p ₁ q ₁	p ₂ q ₁									
A ₁ B ₂	A ₂ B ₂										
p ₁ q ₂	p ₂ q ₂										
B ₂	q ₂										

Genes que se encontram em associação ao acaso são ditos em estado de equilíbrio de ligação; os que não estão em associação ao acaso são ditos em estado de desequilíbrio de ligação.

Em equilíbrio de ligação, as frequências dos gametas serão:

$$\begin{aligned}
 A_1B_1: & p_1 \times q_1 \\
 A_1B_2: & p_1 \times q_2 \\
 A_2B_1: & p_2 \times q_1 \\
 A_2B_2: & p_2 \times q_2
 \end{aligned}$$

Exemplo 7.3

Um exemplo de desequilíbrio de ligação é encontrado nos genes que controlam os grupos sanguíneos MN e Ss em populações humanas. Em um grupo de 1000 ingleses, as frequências de M, N, S e s são, respectivamente, iguais a $p_1 = 0,5425$, $p_2 = 0,4575$, $q_1 = 0,3080$ e $q_2 = 0,6920$. A seguir é apresentado o cálculo das frequências esperadas no EHW e o da aplicação do teste do qui-quadrado.

RESOLUÇÃO

Se os locos estiverem em equilíbrio de ligação, as frequências gaméticas serão p_1q_1 para MS, p_1q_2 para Ms, p_2q_1 para NS e p_2q_2 para Ns. Assim, entre os 1000 genótipos os números esperados de cada genótipo serão:

$$MS = 2 \times 0,5425 \times 0,3080 \times 1000 = 334,2$$

$$Ms = 2 \times 0,5425 \times 0,6920 \times 1000 = 750,8$$

$$NS = 2 \times 0,4575 \times 0,3080 \times 1000 = 281,8$$

$$Ns = 2 \times 0,4575 \times 0,6920 \times 1000 = 633,2$$

Considerando que o número observado para os genótipos foi de:

$$MS = 474$$

$$Ms = 611$$

$$NS = 142$$

$$Ns = 773$$

O valor de X^2 calculado para esses números foi de:

$$X^2 = \sum \frac{(\text{obs} - \text{esp})^2}{\text{esp}}$$

$$X^2 = \frac{(474 - 334,2)^2}{334,2} + \frac{(611 - 750,8)^2}{750,8} + \frac{(142 - 281,8)^2}{281,8} + \frac{(773 - 633,2)^2}{633,2}$$

$$X^2 = 58,48 + 26,03 + 69,35 + 30,87 = 184,73$$

No gráfico que associa X^2 com P (veja a **Figura 6.2**, Aula 6, disciplina Evolução), obtemos uma probabilidade, considerando um grau de liberdade ($4 \text{ classes} - 2 - 1 = 1$), muito inferior a 0,0001. Esse resultado significa que o acaso sozinho pode produzir uma concordância tão pobre quanto um evento em 10.000, e que, portanto, a hipótese de que tais locos estejam em equilíbrio de ligação pode ser rejeitada com confiança.

RESUMO

As freqüências genotípicas, sob cruzamento ao acaso, de um gene com múltiplos alelos A_1, A_2, \dots, A_n e correspondentes freqüências gênicas p_1, p_2, \dots, p_n , onde $p_1 + p_2 + \dots + p_n = 1$, serão iguais a p_i^2 para homozigotos A_iA_i e $2p_i p_j$ para heterozigotos A_iA_j .

Os genes que estão situados nos cromossomos sexuais atingem uma situação de Equilíbrio de Hardy-Weinberg ligeiramente diferente. No sexo homogamético, as freqüências de EHW são as mesmas que as dos genes autossômicos, enquanto no sexo heterogamético, as freqüências genotípicas são idênticas às freqüências gênicas em equilíbrio.

Quando se considera mais de um loco, aparecem dois parâmetros adicionais: a interação gênica e a ligação. Sob cruzamento aleatório, os alelos de qualquer gene serão associados ao acaso no genótipo, de acordo com as freqüências da proporção do Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Cada gene presente na mesma população obedece ao EHW, individualmente, enquanto seus alelos mantêm-se associados de forma não aleatória nos gametas que formam cada geração. Genes que se encontram em associação ao acaso são ditos em estado de equilíbrio de ligação; os que não estão em associação ao acaso são ditos em estado de desequilíbrio de ligação.

AUTO-AVALIAÇÃO

Parabéns por ter chegado ao final desta aula; o conteúdo foi puxado e exigiu bastante esforço de sua parte! No caso de algumas dúvidas persistirem, recomendo procurar seu tutor no Pólo. O conceito do Equilíbrio de Hardy-Weinberg é essencial para entendermos o destino da variabilidade genética ao longo do processo evolutivo.

INFORMAÇÕES SOBRE A PRÓXIMA AULA

Na próxima aula, veremos como o surgimento de técnicas de Biologia Molecular revolucionou o estudo de polimorfismos genéticos, tornando desnecessários os cruzamentos controlados, a análise de genes mutantes ou qualquer outro conhecimento antecipado sobre ecologia e genética de determinado organismo.