




O gene *SBE1* e a rugosidade das ervilhas de Mendel

Gabriel José de Carli¹ e Prof. Dr. Tiago Campos Pereira^{1,2}

¹ Programa de Pós-Graduação em Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

² Departamento de Biologia, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

Autor para correspondência: tiagocampospereira@ffclrp.usp.br

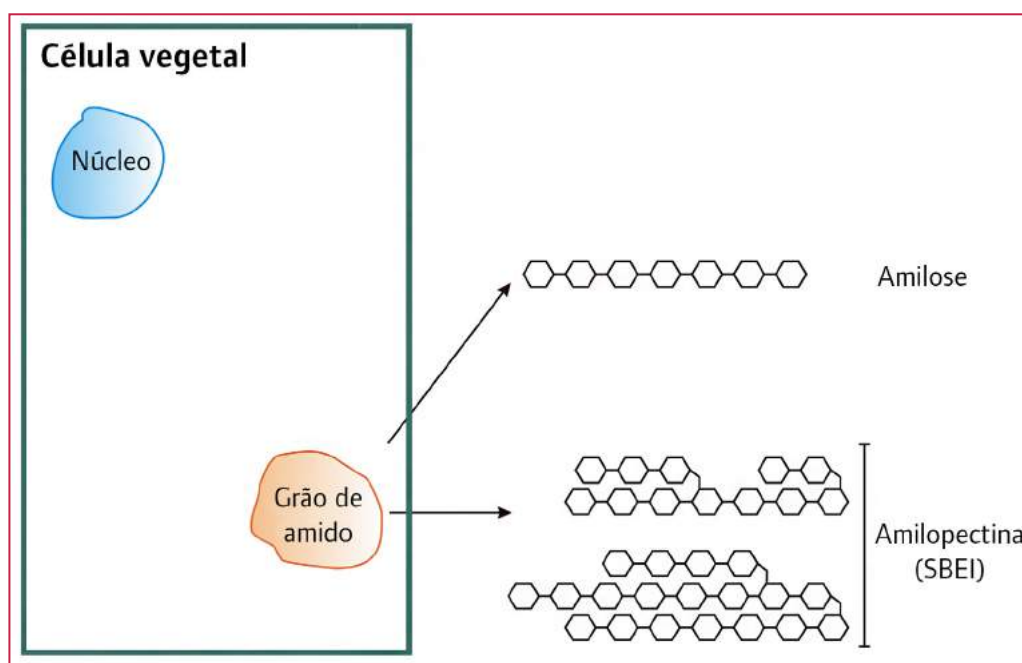


Gregor Mendel contribuiu para o entendimento de mecanismos básicos da herança genética, realizando observações e registros precisos e detalhados ao fazer cruzamentos entre linhagens de ervilha. No entanto, naquela época não havia conhecimentos suficientes para se desvendar e entender a natureza molecular dos fenótipos/genótipos envolvidos em seus estudos. A primeira característica fenotípica, daquelas estudadas por Mendel, a ter sua base molecular elucidada foi a relacionada aos fenótipos liso/rugoso das sementes de ervilha. O locus *r* foi identificado em 1990 e a proteína *starch-branching enzyme I* (SBEI) reconhecida como a responsável por esta característica. O enfoque deste trabalho é o modelo, proposto por Battacharyya e colaboradores, para explicar a rugosidade de sementes de ervilhas com genótipo *rr*.

O DESENVOLVIMENTO DA SEMENTE

As sementes são compostas basicamente por três partes: um tecido embrionário diplóide ($2n$) envolto por um tecido triplóide (o endosperma), ambos protegidos externamente por uma casca. Sabe-se que durante o desenvolvimento da semente ocorre a produção de estruturas intracelulares de reserva, como os grãos de amido ou amiloplastos (Figura 1) que fornecem ener-

gia necessária, por exemplo, para o crescimento da plântula nos primeiros momentos após a germinação. Estes grãos são ricos em dois polímeros de glicose: a amilose (de cadeia linear, mais simples) e a amilopectina (de cadeia ramificada, mais complexa). A ramificação observada na amilopectina é gerada pela ação da enzima *starch-branching enzyme I* (enzima I de ramificação do amido) ou SBEI. Por serem ricas em glicose, ambas servem como excelentes reservas energéticas.



Durante o desenvolvimento da semente (Figura 2), diversas moléculas presentes nas células contribuem para criar uma pressão osmótica, levando a um acúmulo de água nos tecidos da semente. Entre estas moléculas podemos citar a **sucrose**.

Posteriormente, no processo natural de amadurecimento da semente, grande parte da água inicialmente acumulada é perdida (Figura 2), resultando em uma estrutura madura e seca. Este baixo conteúdo hídrico da semente madura é uma característica essencial que a torna viável por longos períodos de tempo mesmo em condições adversas, assim como ocorre em esporos e pólen.

O GENE *SBEI* E SEUS ALELOS

No ano de 1990, Battacharyya e colaboradores clonaram o gene *SBEI*, associado aos fenótipos liso/rugoso (locus *r*, do inglês *rugosus*, rugoso; WHITE, 1917). Eles identificaram dois alelos (*R* e *r*) (Figura 3), que apresentam uma alta expressão nas primeiras etapas do desenvolvimento da semente que declina nas fases tardias. O alelo *R* gera um RNA mensageiro de ~3.500 nucleotídeos, cuja tradução resulta na proteína SBEI, de 922 resíduos de aminoácido (aa) (~105 KDa), responsável por adicionar ramificações (ligações α -1,6) às cadeias de glicose, gerando amilopectina.

Figura 1.

Grão de amido na célula vegetal. Esta estrutura de reserva energética é também conhecida como amiloplasto, sendo rica em dois polímeros de glicose: a amilose e a amilopectina. A enzima responsável pela ramificação característica da amilopectina é a *starch branching enzyme I* (SBEI). Os hexágonos representam o monômero - a molécula de glicose.

Sucrose (também conhecida como sacarose) é um dissacarídeo formado por glicose e frutose.

Transposon Ac/Ds, (do inglês – *Activator/Dissociation Transposable Element*). Transposons, também conhecidos como elementos transponíveis, são entidades genéticas capazes de fazer novas cópias de si mesmas e integrá-las em outras partes do genoma. “Ac/Ds” foi uma das primeiras classes de transposons descobertas.

Por outro lado, o RNA mensageiro correspondente ao alelo *r* apresenta ~4.300 nucleotídeos e menor abundância. Ele possui uma inserção de DNA de 800 pares de bases situada em um éxon na porção 3’ do gene. Esta mutação é responsável pela perda de 61 aa na extremidade carboxi-terminal. Apesar da proteína resultante ainda possuir 861 aa (~93% do tamanho da versão funcional), ela

é incapaz de exercer atividade enzimática. A sequência de DNA que está inserida no alelo mutante possui alta semelhança à família de **transposons Ac/Ds**, do milho, descoberta por Barbara McClintock na década de 1940. Portanto, postula-se que, durante a evolução um elemento transponível dessa família tenha se inserido acidentalmente em tal gene, convertendo o alelo *R* no mutante *r*.

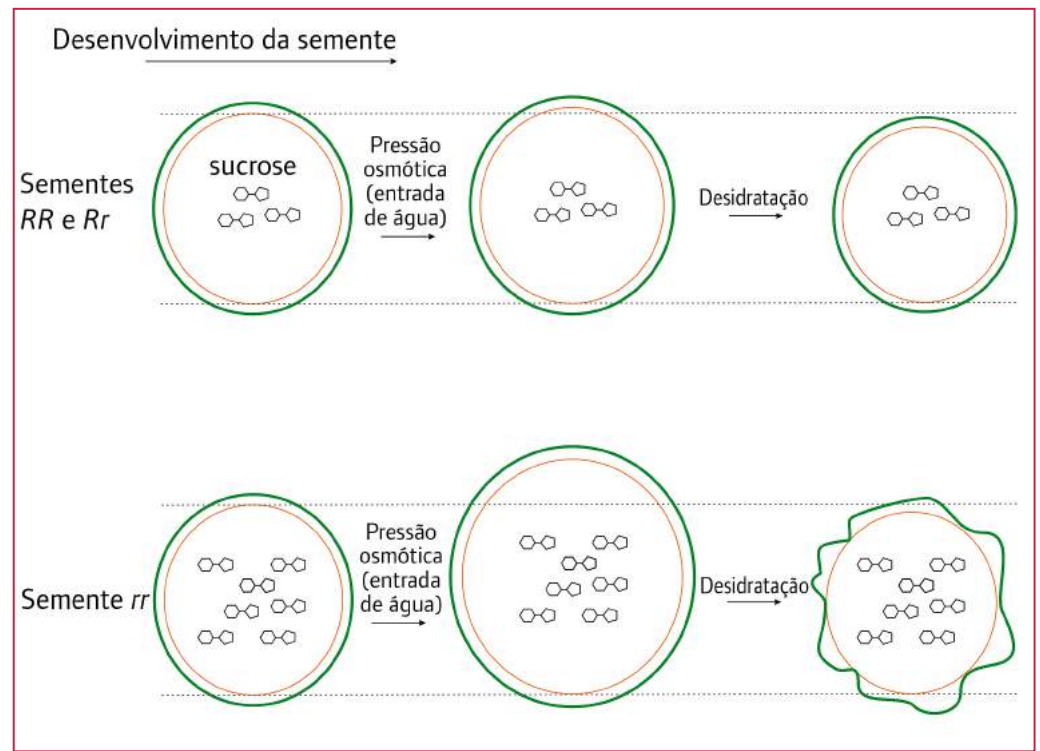


Figura 2.

Alterações de volume durante a formação da semente. Durante o processo natural de desenvolvimento da semente, a pressão osmótica dentro das células vegetais, gerada por moléculas como a sucrose, leva a um acúmulo de água nos tecidos e conseqüente aumento do volume. Posteriormente, em etapas finais do amadurecimento da semente, ocorre a desidratação, cuja perda de água promove o efeito oposto – redução do volume dos tecidos. Uma vez que as sementes *rr* possuem mais sucrose, elas acumulam comparativamente mais água (devido à elevada pressão osmótica). Na etapa de desidratação, a semente perde água e reduz muito de volume. A casca (representada pela linha externa verde) não encolhe. Conseqüentemente, ao acompanhar a redução de volume dos tecidos internos (linha laranja), ocorre o enrugamento. Note as linhas paralelas descontínuas: a maior expansão inicial de volume pelas sementes *rr* pode ser acompanhada.

GENÓTIPOS E FENÓTIPOS

A incapacidade da enzima codificada pelo alelo *r* em adicionar cadeias laterais (ramificações) aos polímeros de glicose impossibilita a produção de amilopectina. Há pelo menos duas conseqüências derivadas disto.

Primeiro, sem a produção de amilopectina, que é um dos principais componentes dos grãos de amido, sementes de genótipo *rr* possuem grãos menores e profundamente fissurados. Segundo, observa-se uma con-

centração maior de sucrose (glicose + frutose) nas sementes de genótipo *rr* em comparação às de genótipo *RR* e *Rr* (Figura 4). Isto se deve a um fato simples: a síntese de amilose e amilopectina, que são polímeros de glicose, utiliza esta molécula de açúcar. Contudo, a produção de amilopectina demanda muito mais glicose (devido ao seu tamanho e ramificações). Portanto, nas sementes de genótipo *rr*, a grande quantidade de glicose não polimerizada em amilopectina é convertida em sucrose.

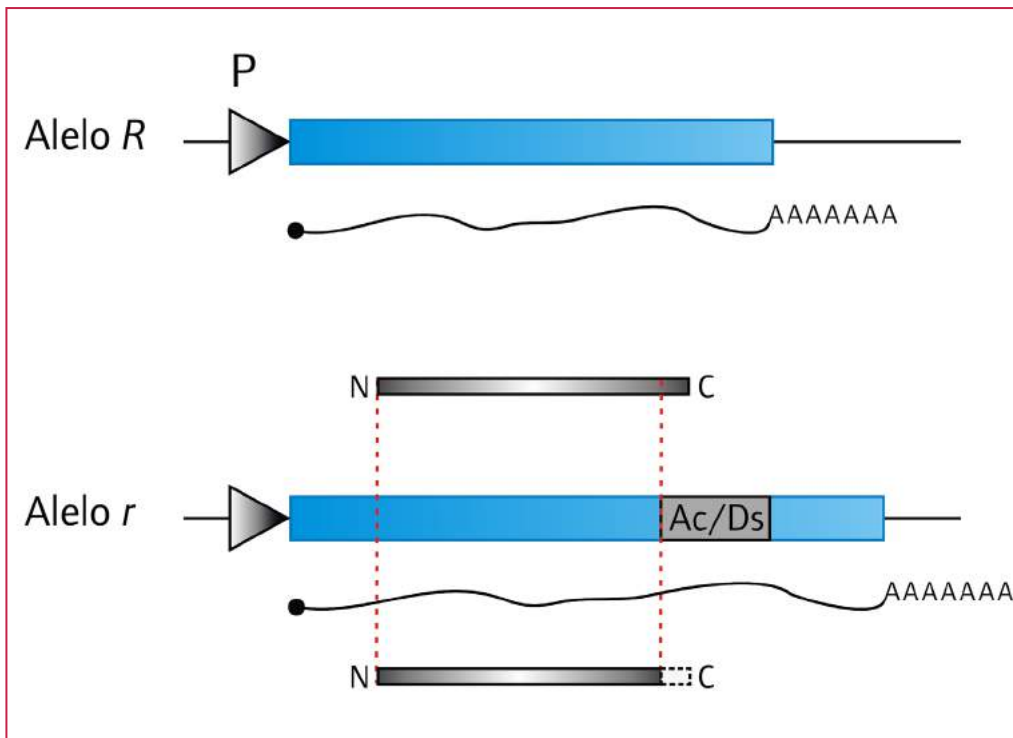


Figura 3. Diferença molecular entre o alelo *R* e *r*. O retângulo azul superior representa o alelo *R*, que codifica uma versão funcional da enzima I de ramificação do amido (SBEI). O estudo de Battacharyya e colaboradores (1990) evidenciou que um elemento de transposição da classe Ac/Ds se integrou na porção 3' do gene da SBEI, gerando assim o alelo *r*, cujo produto não é funcional. O RNA mensageiro (linha sinuosa com a cauda poli-A) e a proteína (barra cinza) são apresentados logo abaixo dos respectivos alelos. A imagem é uma versão simplificada, sem a descrição de éxons e íntrons. A linha vermelha tracejada evidencia uma perda de 61 aminoácidos na porção carboxi-terminal da proteína codificada pelo alelo *r*. Triângulo: região regulatória (promotor - P). N: amino-terminal. C: carboxi-terminal.

Durante o amadurecimento de sementes *rr*, acontece o curioso fenômeno de enrugamento, devido a uma conjunção de fatores (Figura 2). Lembre-se de que durante o desenvolvimento normal da semente, a sucrose no interior da célula contribui na geração de uma pressão osmótica que promove um acúmulo inicial de água nos tecidos e esta pressão é proporcional ao número de moléculas no interior da célula. Portanto, uma vez que células *rr* possuem uma quantidade maior de sucrose, a pressão osmótica é maior, promovendo um acúmulo proporcionalmente maior de água e grande aumento do volume das células e dos tecidos.

Por conseguinte, durante a etapa de desidratação, as sementes *rr* têm grande conteúdo de água a perder, levando-as a uma drástica redução do volume celular e dos tecidos, sendo diminuído o conteúdo interno da semente. Neste processo a casca da semente não sofre redução de suas dimensões e, por não ser elástica, ocorre o enrugamento. Uma vez que sementes *RR* acumularam comparativamen-

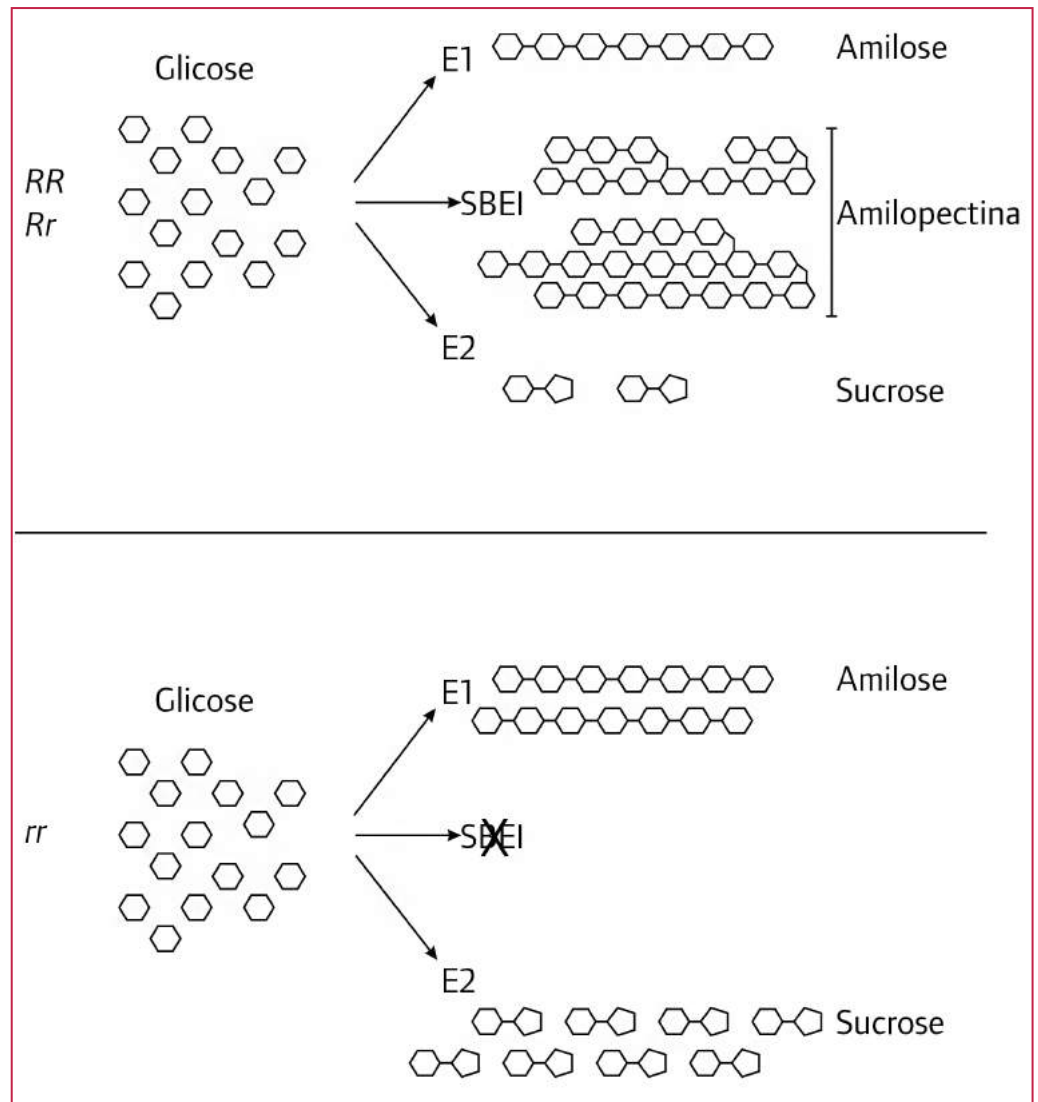
te menos água durante a desidratação, há apenas uma leve redução do volume interno da semente. Portanto, a casca da semente retrai-se apenas um pouco, conferindo um aspecto liso à superfície da mesma.

CONCLUSÕES

O gene *SBEI* é pleiotrópico, afetando não apenas a composição final de carboidratos (que resulta em alterações na pressão osmótica e no aspecto da superfície da semente), mas também de outras biomoléculas tais como lipídeos e proteínas (BATTACHARYYA *et al.*, 1990). Adicionalmente, outras análises evidenciaram que sementes *RR* desenvolvidas em um meio de cultura hiperosmótico, apresentam alterações na composição de **legumina**, expressando o fenótipo *rr*.

Desta forma, o estudo do gene *SBEI* poderá fornecer uma maior compreensão sobre a relação entre pressão osmótica, desenvolvimento e composição diferencial de biomoléculas nas sementes, tanto de ervilha como em sementes de outras espécies.

Legumina – componente das sementes de muitas leguminosas; caseína vegetal.

**Figura 4.**

Relação dos genótipos *RR*, *Rr* e *rr* com o acúmulo de sucrose na semente. O alelo *R* codifica a versão funcional da enzima SBEl. Portanto, sementes *RR* e *Rr* são capazes de sintetizar a amilopectina. Uma vez que a enzima codificada pelo alelo *r* não é funcional, sementes *rr* não produzem amilopectina, consequentemente deixando uma grande quantidade de glicose disponível. Estas moléculas são então convertidas em sucrose (glicose + frutose). E1: enzima envolvida na biossíntese de amilose; E2: enzima envolvida na biossíntese de sucrose.

REFERÊNCIAS

- BATTACHARYYA, M. K.; SMITH, A. M.; ELLIS, T. H. N.; HEDLEY, C.; MARTIN, C. The Wrinkled-Seed Character of Pea Described by Mendel Is Cause by a Transposon-Like Insertion in a Gene Encoding Starch-Branching Enzyme. *Cell*, v. 60, p. 115-122, 1990.
- WHITE, O. E. Studies of Inheritance in *Pisum*. *Proceedings of American Philosophical Society*, v. 56, p. 487-588, 1917.

