

# TESTES PARA A LOCALIZAÇÃO DE FATORES GENÉTICOS NO MILHO

## TESTES DE LIGAÇÃO

**E. A. Graner**

Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Problema importante para os que trabalham com a genética do milho é a obtenção de testes apropriados, seja para a identificação do material que está sendo trabalhado, seja para a localização de novos fatores genéticos ou gens, obtidos natural ou experimentalmente. Nos Estados Unidos da América, onde a genética desta planta é estudada intensivamente, esses testes podem ser obtidos sem dificuldade do Departamento de Melhoramento de Plantas da Universidade de Cornell (Maize Genetics Coöperation) ou ainda dos vários pesquisadores que trabalham no assunto.

Sabemos porém, de nossas experiências, e é um fato também conhecido de vários outros pesquisadores em nosso país, que linhagens de milho norte-americanas, quando trazidas para nosso clima, não se desenvolvem satisfatoriamente. De um modo geral, as plantas crescem pouco, ficam fracas, florescem muito precocemente e, quando produzem espigas, estas são muito pequenas. Linhagens adaptadas a um clima completamente diferente do nosso, com um período diário de iluminação muito maior nos meses de verão e selecionadas para bastante precocidade, por terem os americanos necessidade de cultivá-las durante um período muito pequeno de tempo, por causa das estações muito nítidas naquele país, não devemos extranhar que elas não se desenvolvam bem em nossas condições. Devemos porém lembrar que, ocasionalmente, encontramos linhagens norte-americanas que crescem satisfatoriamente em nosso país e tivemos oportunidade de observar isto com algumas linhagens testes e outras de milho doce. Estas últimas eram linhagens que não prestavam para as condições de lá,

por serem muito tardias; aqui são, porém, precoces e desenvolvem-se bem.

Quando iniciámos um estudo da genética da coloração amarela-laranja do endosperma do milho, ficámos logo com dificuldades para prosseguir os trabalhos por falta de testes apropriados, seja para os fatores genéticos já conhecidos e responsáveis por essa coloração, seja para marcar os demais cromossômios. Oferecendo-se-me uma oportunidade de ir aos Estados Unidos, procurei então ver de que maneira melhor poderia ser resolvido este problema. Foi possível reunir lá uma boa coleção de marcas em todos os cromossômios mas que, pelas razões já citadas, pouco adiantaria serem trazidas para o Brasil. O problema era portanto transferir essas marcas para linhagens de milho brasileiras mas, infelizmente, o milho Cateto, que era importante para os estudos da coloração do endosperma, não chegou a florescer nos Estados Unidos. Procurei então cruzar as linhagens obtidas com uma linhagem da Argentina, denominada **Colorado Casilda**, e que fazia parte da coleção do Departamento de Genética da Universidade de Missouri. Esta linhagem tem também a coloração laranja das sementes bastante intensa, como a do milho Cateto, e floresceu normalmente nas condições de lá. O material colecionado nos Estados Unidos inclui muitas linhagens obtidas da Universidade de Cornell (Maize Genetics Coöperation) e outras diretamente de muitos geneticistas.

Os testes para a localização de fatores genéticos ou gens no milho podem ser reunidos nos seguintes grupos:

- a) Testes de ligação
- b) Testes trissômicos
- c) Testes com deficiências
- d) Testes com translocações.

Chamamos de testes de ligação as linhagens que reúnem uma, duas ou mais marcas, dominantes ou recessivas e as quais, quando cruzadas com a linhagem contendo o gen ou os gens em estudo, poderão mostrar ligação (linkage) ou independência na segregação. Testes trissômicos são aqueles que contêm um dos 10 cromossômios representado três vezes na linhagem.

Se o gen, cuja localização se deseja conhecer, estiver no cromossômio em questão, a segregação a ser obtida será diferente da razão 3:1. Testes com deficiências são linhagens contendo deficiências em determinados cromossômios (no geral produzidas experimentalmente por meio de raio X) de maneira que os grãos de pólen que contêm o cromossômio deficiente não competem com os normais na fertilização. Testes com translocações são linhagens contendo translocações entre os cromossômios A ou ainda entre os cromossômios A e B. Enquanto que os testes dos grupos **b**, **c** e **d** se prestam para gens recessivos, os testes do grupo **a** servem tanto para gens recessivos como para gens dominantes.

Linhagens de milho representando os quatro grupos de testes mencionados foram então cruzadas com o material sul-americano e a transferência das marcas para um "back-ground" favorável para as nossas condições vem sendo estudado. O estudo dos grupos, **b**, **c**, e **d**, já bem adiantado, será considerado em outra ocasião, quando então discutiremos também como utilizá-los. Vamos hoje nos referir somente aos testes do grupo **a**, cujo trabalho se encontra mais adiantado que o dos demais grupos e apresenta já resultados bastante satisfatórios.

As linhagens contendo as marcas bem conhecidas e localizadas foram cruzadas com a linhagem escolhida e as plantas da primeira geração foram em parte autofecundadas e em parte utilizadas para "back-cross". As segregações foram então analisadas, trabalho êste que compreendeu uma classificação de cerca de 50.000 indivíduos (representados por sementes, platinhas e plantas adultas). Em mais de 90% dos casos encontrámos sempre segregações normais, mostrando assim que os gens em estudo não sofreram ou pouco sofreram a influência de modificadores presentes na linhagem introduzida para fornecer um "back-ground" apropriado. Os poucos gens que não mostraram segregação normal foram ou eliminados ou estão sendo submetidos a uma rigorosa seleção afim de se encontrar combinações que permitam a sua manifestação normal. Uma vez analisadas as segregações, o material foi novamente plantado e novos cruzamentos entre plantas contendo

as marcas conhecidas e plantas irmãs normais foram realizados. Nova análise da segregação foi agora efetuada, afim de se isolar as combinações Heterozigoto x Homozigoto, da fórmula  $Aa \times aa$ , dando portanto segregações 1:1. Com estas combinações a conservação dos testes torna-se agora bastante facilitada, evitando-se a autofecundação e por conseguinte, o "inbreeding". Nesta forma as linhagens se encontram agora e as plantas têm se mostrado produtivas e vigorosas. Se necessário introduzir mais tarde novo vigor nas linhagens, êle poderá ser obtido das variedades comerciais nossas. Mas, se isto não fôr preciso, tanto melhor, pois a linhagem argentina utilizada nos cruzamentos realizados é relativamente precoce, de modo que os testes agora selecionados estão florescendo com cêrca de 60 dias, que é bastante vantajoso, pois permite a obtenção de sementes em 3 meses, facilitando assim duas plantações por ano, uma no comêço de Setembro e outra em fins de Dezembro o que tem sido feito com bastante sucesso. As linhagens brasileiras são, no geral, tardias e se utilizadas em cruzamentos com os testes, combinações tardias poderão aparecer, dificultando então a plantação duas vezes ao ano. Este inconveniente pode, naturalmente, ser eliminado por meio de seleção, que não deixa porém de ser um trabalho demorado.

Os testes agora obtidos, cuja utilização não precisa ser aqui exemplificada, pois consiste nas observações comuns de ligação (linkage) e consequente determinação do valor da troca de partes entre cromossômios  $c\%$  (crossing-over), são linhagens que têm apresentado um desenvolvimento satisfatório. Os gens até agora transferidos para o novo "back-ground" estão indicados na figura anexa, que foi baseada na publicação de RANDOLPH (4), com pequenas modificações. Procurá-mos, devido ao fato de ser um trabalho muito grande, transferir sômente os gens bem localizados e cuja expressão fenotípica é bastante clara, não oferecendo assim, no geral, dificuldades para classificação.

As linhagens referidas contêm as combinações seguintes:

Cromossômio 1: sr, bm2

P, br, bm2

- Cromossômio 2 : lg-1, gl-2, v-4  
(y3-al), Y1  
(y3-al), Y1, Y5  
(y3-al), y1, y5  
B, A, Pl
- Cromossômio 3 : Ab-1, B, pl, Rg  
a-1, ts-4, cr-1  
Rg, A-1, b, pl  
a-1, Rg  
a-1, et  
a-1, B, Pl
- Cromossômio 4 : su-1, Ts-5  
su-1, la  
su-1, Tu, A, B, Pl
- Cromossômio 5 : a-2, A-1, C, R, b, pl  
bt, A, C, R  
bt, bv  
pr, A, C, R
- Cromossômio 6 : po, y-1, A, C, R  
su2  
py, y-1, Pl, A, B
- Cromossômio 7 : v-5, gl-1  
v-5, gl-1, ij, bd  
Bn-1, y-1
- Cromossômio 8 : j-1  
v-16, j-1, ms-8
- Cromossômio 9 : c, sh, wx  
yg2, sh, wx  
C, A, R  
v-1, C, A, R

Cromossômio 10: li, g-1  
 v-18  
 rr, A, C,  
 rg, A, C  
 Rg  
 Rst, A, C  
 Rmt, A, C  
 Rmb, A, C  
 Rnj, A, C

Faremos a seguir uma descrição resumida da expressão fenotípica de cada um dos fatores genéticos mencionados, descrição essa baseada em EMERSON, BEADLE e FRASER (1) e em parte em nossas próprias observações e com informações também sobre a viabilidade.

### CROMOSSÔMIO 1

**sr - striate:** Fôlhas com estrias longitudinais muito finas e próximas umas das outras. Este caráter se manifesta desde a plantinha (seedling) e persiste por toda a vida da planta. As plantas estriadas crescem mais vagarosamente que as plantas irmãs normais, florescendo, muitas vezes, alguns dias mais tarde. As vezes não produzem espigas mas produzem pólen. Classificação e viabilidade boas.

**P - Pericarp:** Existe uma grande série de aleles, todos produzindo coloração do pericárpio. O alele presente em nosso material produz coloração vermelha. Classificação e viabilidade normais.

**br - brachytic:** Internódios muito curtos, fazendo com que a planta fique muito pequena. As fôlhas da planta ficam duras e retas. Classificação boa em plantas de meia idade. Produzem pólen e no geral as espigas não se desenvolvem.

**bm2 - brown midrib-2:** Coloração marron da nervura principal das fôlhas. Classificação boa em plantas de meia idade. Viabilidade normal.

### CROMOSSÓMIO 2

- lg-1 - liguleless-1:** Fôlhas sem ligula, ficando na planta numa posição mais vertical que nas plantas com fôlhas normais. Classificação boa a partir das plantinhas com 3-4 fôlhas. Viabilidade normal.
- gl-2 - glossy-2:** Fôlhas das plantinhas com um verde mais escuro e brilhantes. Classificação boa principalmente nas plantinhas de 3-4 fôlhas; quando molhadas com um irrigador de furos bastante finos muitas gotículas de água permanecem nas fôlhas. Viabilidade normal.
- B - Booster:** Intensificador para a coloração da planta, que se manifesta principalmente nas partes expostas ao sol. Classificação boa nas plantas adultas. Viabilidade normal. Interação com os gens **A** e **PI**, produzindo plantas marrons **aBPI** e roxas, **ABPI**.
- v4 - virescent-4:** Plantinhas amareladas. Classificação boa nos primeiros 15 dias do desenvolvimento da planta. Viabilidade boa.
- al - albescent:** Plantas manchadas de branco; no início do desenvolvimento da planta as manchas são transversais; expressão do caráter bastante variável e classificação boa a partir de plantinhas com 3-4 fôlhas. Viabilidade fraca, principalmente quando as plantas são muito brancas. As plantas com poucas manchas muitas vezes conseguem se desenvolver, produzindo pólen e espiga. (Este fator parece ter um duplo efeito, produzindo também sementes brancas, caráter este atribuído ao gen **y3**).

### CROMOSSÓMIO 3

- cr-1 - crinkly-1:** Plantas mais baixas que as plantas irmãs normais e com fôlhas enrugadas na sua base. Classificação em plantas de meia idade, nem sempre boa. Viabilidade regular.
- Rg - Ragged:** Plantas com fôlhas rasgadas longitudinalmente. Classificação boa em plantas de meia idade. Produzem pólen mas no geral não produzem espigas boas. Mais ou menos letal no estado homozigoto **RgRg**.

**ts4 - tassel seed-4:** Inflorescência masculina (flecha) apresentando estigmas (barba). Algumas sementes chegam a se formar na flecha. Expressão bastante variável. Classificação e viabilidade regulares.

**a-1 - anthocyanin-1:** Impede o aparecimento dos antocianosídeos nas plantas e nas sementes. Interação com os gens A2, C, R para a coloração das sementes e com os gens B, P1 para a coloração das plantas. Classificação e viabilidade boas, e em combinações apropriadas, classificável também nas plantinhas de 3-4 fôlhas.

**Ab-1 - Brown pericarp:** Efeito semelhante àquele de A-1 com respeito à coloração da planta. Produz pericárpio marron. Classificação e viabilidade normais.

**et - etched:** Sementes marcadas por cicatrizes irregulares e plantas amareladas nos primeiros estados de seu desenvolvimento. Classificação nas plantinhas muito boa e muitas vezes difícil nas sementes. Viabilidade boa.

#### CROMOSSÓMIO 4

**Ts5 - Tassel seed-5:** Inflorescência masculina (flecha) contendo estigmas (barba), algumas sementes muitas vezes se formando na flecha. Expressão bastante variável. Classificação e viabilidade boas.

**la - lazy:** Parte aérea com um geotropismo positivo bastante pronunciado, as plantas deitando-se no solo. Classificação boa em plantas de meia idade. Viabilidade normal.

**su-1 - sugary-1:** Endosperma translúcido e enrugado. Classificação muito boa. Germinação das sementes fraca em condições de campo. Plantas normais.

**Tu - Tunicate:** Sementes cobertas por palhas (glumas). Expressão variável, mas classificação boa. Algumas sementes podem também se desenvolver na inflorescência masculina (flecha). Classificação pela flecha muitas vezes possível. Viabilidade boa.

**CROMOSSÓMIO 5**

- a-2 - anthocyanin-2:** Os pigmentos antocianosídeos não se formam nas plantas e nas sementes. Interação com os gens A1, C, R na coloração das sementes e com os gens A1, B, Pl na coloração das plantas. Em combinações próprias, classificável nas plantinhas com 3-4 fôlhas.
- bt - brittle:** Endosperma bastante enrugado. Classificação muito boa. Germinação das sementes fraca, principalmente nas condições de campo. Plantas normais.
- bv. - brevis:** Plantas pequenas, mais ou menos metade que as plantas irmãs normais, devido ao encurtamento dos internódios. Classificação nem sempre muito fácil. Viabilidade regular, ruim em certas linhagens.
- pr - red aleurone:** Sementes vermelhas quando os antocianosídeos se formam pela interação dos gens A1, A2, C, R. Classificação variável, difícil em certas linhagens.

**CROMOSSÓMIO 6**

- po - polymitotic:** Plantas não produzindo pólen, devido a irregularidades na divisão dos meiócitos. Classificação boa pela flecha. Produzem espigas normais.
- Y-1 - Yellow endosperm-1:** Endosperma amarelo-laranja. Classificação e viabilidade normais.
- Pl - Purple plant:** Plantas completamente roxas no estado adulto, quando este gen está em combinação com os gens A, B; em genótipos AbPl a classificação é boa nas anteras, que permanecem bastante roxas. Quando aBPl, as plantas tornam-se marrons. Outras interações com A, B. Classificação e viabilidade boas.
- py - pigmy:** Plantas muito pequenas, com fôlhas estriadas. Classificação boa a partir de plantinhas com 3-4 fôlhas. Produzem pólen e raramente produzem espigas. Viabilidade regular.
- su2 - sugary-2:** Endosperma translúcente, mas não enrugado. Classificação quase sempre difícil. Viabilidade normal.

**CROMOSSÓMIO 7**

- v5 - virescent-5:** Plantinhas amareladas, tornando-se verdes

muito rapidamente. Classificação razoável em plantinhas de 3-4 folhas. Viabilidade boa.

**gl-1 - glossy-1:** Folhas lustrosas e de um verde mais escuro que as plantas irmãs normais. Classificação boa em plantinhas de 3-4 folhas e principalmente depois de molhadas com um irrigador de furos bastante finos; muitas gotículas de água ficam na superfície das folhas. Viabilidade normal.

**ij - iojap:** Folhas com listas longitudinais variáveis, durante toda a idade da planta. Classificação boa a partir de plantas de meia idade. Viabilidade normal.

**En-1 - Brown aleurone-1:** Sementes cor amarela-limão. Classificação muitas vezes difícil e só viável quando o endosperma é branco. Expressão bastante variável; muitas vezes as sementes bn-1 bn-1 Bn-1 não se diferenciam das sementes brancas. Viabilidade normal.

**bd - branched ear:** Espigas ramificadas na base e muitas vezes sem estigma (barba). Classificação boa. Viabilidade regular.

### CROMOSSÔMIO 8

**v16 - virescent-16:** Plantinhas amareladas, tornando-se verdes muito rapidamente. Classificação regular e viabilidade normal.

**ms8 - male sterile-8:** Inflorescência masculina (flecha) estéril. Classificação boa pela flecha. As plantas produzem espigas normalmente.

**j - japonica:** Folhas das plantas com listas longitudinais brancas ou amarelas, muito variáveis. Classificação boa a partir de plantas de meia idade. Viabilidade normal.

### CROMOSSÔMIO 9

**yg2 - yellow green-2:** Plantas amareladas. Classificação boa a partir das plantinhas com 3-4 folhas. As plantas desenvolvem-se mais vagorosamente que as plantas irmãs normais, florescendo também alguns dias mais tarde. Viabilidade regular.

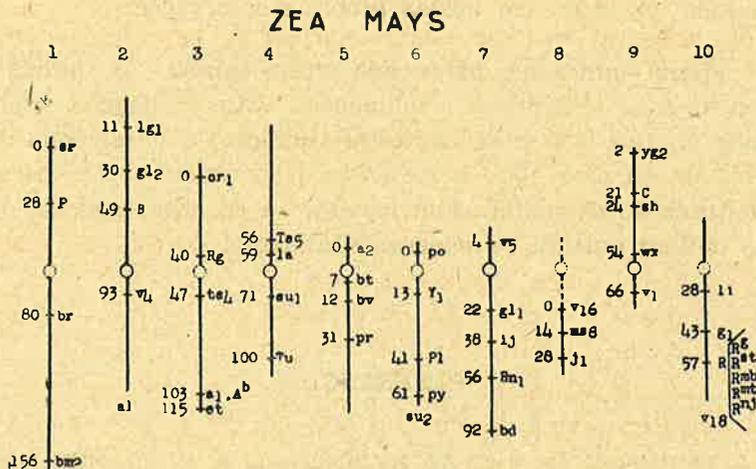
- C** - **Aleurone color**: Sementes com a aleurona colorida quando C está combinado com os gens A1, A2, R. Classificação e viabilidade normais.
- sh** - **shrunken**: Sementes com a parte superior (ou algumas vezes lateral) côncava. Classificação quase sempre boa. Germinação boa, fraca em condições de campo.
- wx** - **waxy**: Amido no endosperma (e outras partes) diferente do normal, colorindo de vermelho-marron pela reação com iodo. Classificação variável, em algumas linhagens boa. Viabilidade normal. Classificação dos grãos de pólen possível pela reação com iodo.
- v-1** - **virescent-1**: Plantinhas amareladas. Expressão variável. Classificação regular e viabilidade normal.

### CROMOSSÔMIO 10

- li** - **lineate**: Fôlhas das plantas com estrias longitudinais. Classificação muitas vezes boa, só possível em plantas a partir de meia idade. Viabilidade normal.
- g-1** - **golden-1**: Plantas de um amarelo côr de ouro. Expressão variável. Classificação boa e viabilidade normal.
- R** - **Colored aleurone**: Produz coloração da aleurona nas sementes quando combinado com A1, A2, C. Possui uma série grande de aleles afetando a coloração da planta, dos quais Rg é o mais fraco, produzindo anteras e barbas verdes. Classificação e viabilidade normais. No endosperma de constituição rrR, a aleurona se apresenta manchada.
- Rst** - **Aleurone stippled**: Alele de R, produzindo sementes com a aleurona manchada de pontos muito pequenos. Expressão variável e viabilidade normal.
- Rmb** - **Aleurone marbled**: Alele de R. Sementes tendo aleurona com manchas irregulares, à semelhança das manchas do mármore. Expressão variável e viabilidade normal.
- Rmt** - **Aleurone mottled**: Sementes tendo a aleurona com manchas irregulares, grandes e pequenas. Expressão variável e viabilidade normal.
- Rnj** - **Aleurone Navajo pattern**: Alele de R. Sementes com

aleurona colorida na parte central do grão, formando uma só mancha cuja expressão é bastante variável. Classificação algumas vezes difícil. Viabilidade normal.

**v18.** - virescent 18: Plantinhas amareladas, tornando-se verdes rapidamente. Classificação boa quando feita bem cedo. Viabilidade normal.



### RESUMO

A transferência de vários fatores genéticos do milho, bem conhecidos e bem localizados e cuja expressão fenotípica é boa, para um "back-ground" satisfatório para as condições do Brasil e, provavelmente, outras partes da América do Sul, foi tentada, tendo em vista o não desenvolvimento ou desenvolvimento pouco satisfatório das linhagens norte-americanas em nosso país.

Um estudo da segregação desses fatores genéticos nos cruzamentos realizados, que compreendeu uma análise de cerca de 50.000 indivíduos (sementes, plantinhas e plantas adultas) mostrou que em mais de 90% dos casos a expressão fenotípica desses gens não foi alterada. Os poucos gens, cujas segregações não foram normais foram ou eliminados ou estão sendo sujeitos a uma rigorosa seleção afim de se isolar combinações onde a sua manifestação não seja alterada por modificadores.

Os fatores transferidos estão representados no quadro anexo. Uma descrição da expressão fenotípica deles foi feita, baseada em parte em nossas próprias observações.

Foram indicadas, para cada cromossômio, as linhagens com as suas respectivas combinações. Estas linhagens, produzindo plantas boas para as nossas condições e florescendo com cerca de 60 dias após a sementeação, constituem testes para a identificação de material ou localização de novos gens do milho obtidos natural ou experimentalmente.

#### REFERÊNCIAS

- 1 — EMERSON, R. A., G. W. BEADLE and A. C. FRASER (1935) — A summary of linkage studies in maize. Cornell University, Memoir 180 : 1-83.
- 2 — HAYES, H. K. and IMMER, F. R. (1942) — Methods of Plant Breeding. McGraw-Hill Book Co., Inc. — New York and London.
- 3 — HOROVITZ, S. (1941) — Nuevo gen del cuarto cromosoma de maiz. Anales del Instituto Fitotecnico de Santa Catalina. 3 : 13-19.
- 4 — RANDOLPH, L. F. (1941) — Genetic characteristics of the B chromosomes in maize. Genetics. 26:608-631.